

Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu



SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih
Gelar Sarjana Kimia pada
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Oleh :

NUR ALFINA

NIM: 60500117045

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR

2021

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Alfina
NIM : 60500117045
Tempat/Tgl. Lahir : Barru, 06 November 1998
Jurusan : Kimia
Alamat : Pondok Aspuri Masyita, jalan Yasin Limpo No. 59, Samata.
Judul : Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh rasa sadar bahwa skripsi ini adalah benar hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orangg lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi ini dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Gowa, Agustus 2021

Penyusun



Nur Alfina

NIM. 60500117045

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

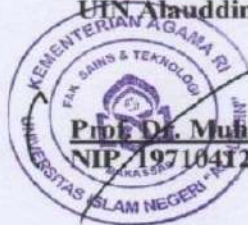
Skripsi yang berjudul “Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu” yang disusun oleh Nur Alfina, NIM: 60500117045, mahasiswa jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqassyah yang diselenggarakan pada hari Jumat, 06 Agustus 2021 bertepatan dengan 27 Zulhijjah 1442 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Kimia.

Samata-Gowa, Jumat, 06 Agustus 2021 M
27 Zulhijjah 1442 H

DEWAN PENGUJI

Ketua	: Prof. Dr. Muhammad Halifah Mustami, M.Pd.	(.....)
Sekretaris	: Dr. Rismawaty Sikanna, S.Si., M.Si.	(.....)
Munaqys 1	: Asriani Ilyas, S.Si., M.Si.	(.....)
Munaqys 2	: Dr. Muhammad Sadik Sabry, M.Ag.	(.....)
Pembimbing 1	: Dr. Maswati Baharuddin, M.Si	(.....)
Pembimbing 2	: Amalyah Febryanti, S.Si., M.Si.	(.....)

Diketahui Oleh:
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar



Prof. Dr. Muhammad Halifah Mustami, M.Pd.
NIP. 19710412 200003 1 001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillahirobbil ‘alamin penulis panjatkan segala puji dan syukur atas kehadiran Allah *Subhanahu wa ta’ala* karena dengan segala rahmat dan karunia-Nya yang tidak terhingga sehingga penulis masih diberi umur, kesehatan dan kesempatan dalam menyelesaikan tugas akhir berupa skripsi dengan judul **“Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu”**. Tidak lupa shalawat dan salam kepada junjungan Nabi Muhammad Shallallahu ‘Alaihi Wasallam yang merupakan suri tauladan bagi umat manusia. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan mendapatkan gelar sarjana di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Selama proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai hambatan dan tantangan akan tetapi semuanya dapat dilalui karena adanya dukungan, motivasi serta do’a dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak terutama kepada orang tua penulis bapak Muhammad sabir dan Ibu Hukmia serta saudara dan keluarga yang selalu ada untuk memberikan kasih dan sayang, do’a dan dukungan baik moril maupun materil. Tak lupa pula ucapan terima kasih yang sangat besar dan tulus penulis berikan kepada:

1. Prof. Drs. Hamdan Juhannis, M.A, Ph.D. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. Prof. Dr. Muhammad Halifah Mustami, M.Pd. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

3. Dr. H. Asri Saleh, S.T., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. Dr. Rismawaty Sikanna, S.Si., M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Dr. Maswati Baharuddin, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I serta PA yang tak hentinya memberi arahan dan semangat.
6. Amalyah Febryanti, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang selalu meluangkan waktu dalam memberikan arahan selama penyusunan skripsi ini.
7. Asriani Ilyas, S.Si., M.Si. selaku penguji I dan Dr. Muhammad Sadik Sabary, M.Ag. selaku penguji II yang selalu memberikan kritik dan saran kepada penulis.
8. Seluruh dosen dan staf Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN alauddin Makassar atas segala ilmu yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di bangku perkuliahan.
9. Laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, terkhusus pada Laboran Biokimia kak Fitria Aziz, S.Si., S.Pd atas segala ilmu, kebaikan dan bimbingan selama menempuh pendidikan dan penelitian hingga selesai.
10. Hj. Nurdin selaku orang tua kedua saya yang selalu menasehati dan memberikan dukungan penuh selama menempuh pendidikan di bangku perkuliahan.
11. Teman penelitian Biokimi yaitu Tendri Abeng yang selalu memberi dukungan dalam mengerjakan proposal, penelitian, dan skripsi hingga selesai.
12. Kimia angkatan 2017 ORB17AL (Ismail, Sahrani Saharuddin, Hajrah H.A, Fitri Wiranti, Nur Fitri Ramadani, Nurul Annisa, Tiara Nur Fadillah) serta kimia angkatan 2016 LIGAN (Muliani, S.Si dan Wulan Wahyuningsih, S.Si).

Akhir kata penulis mengucapkan syukur dan berharap tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Semoga apa yang kita lakukan senantiasa bernilai ibadah oleh Allah swt.

Wassalamu alaikum Wr. Wb

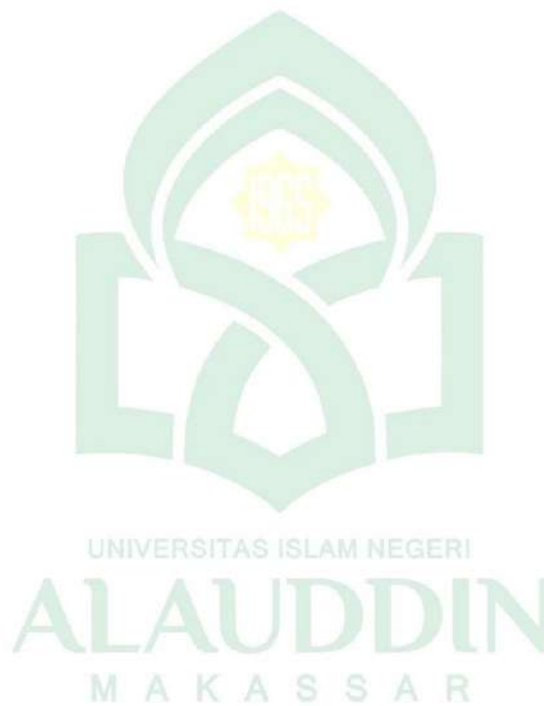
Gowa, Agustus 2021

Penulis,



Nur Alfina

60500117045



DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1-6
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7-19
A. Tanaman Sagu (<i>Metroxylon</i> sp)	7
B. Larva Kumbang Sagu (<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>)	9
C. Amilum.....	11
D. Bakteri Amilolitik.....	12
E. Enzim Amilase	13
F. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim	16
G. Spektrofotometer UV-VIS.....	18

BAB III METODE PENELITIAN.....	20-26
A. Waktu dan Tempat.....	20
B. Alat dan Bahan	20
C. Prosedur Penelitian.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27-38
A. Hasil Penelitian.....	27
B. Pembahasan	29
1. Produksi Enzim	29
2. Penentuan Aktivitas Enzim.....	30
3. Karakterisasi Enzim	31
3.1 Penentuan Suhu Optimum.....	31
3.2 Penentuan pH Optimum.....	33
3.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum.....	35
4. Aktivitas Enzim Pada Substrat Alami Kulit Singkong.....	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	46
RIWAYAT HIDUP.....	106

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kadar Amilosa dan Amilopektin pada Tumbuhan	12
Tabel 4.1 Hasil Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada Suhu	27
Tabel 4.2 Hasil Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada pH.....	28
Tabel 4.3 Hasil Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada Konsentrasi Substrat	28



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon Sagu (<i>Metroxylon</i> sp).....	7
Gambar 2.2. Larva Kumbang Sagu.....	10
Gambar 2.3 Struktur Amilosa	11
Gambar 2.4.Struktur Amilopektin.....	11
Gambar 2.5 Mekanisme Kerja Enzim Amilase.....	15
Gambar 2.6 Alat Spektrofotometer	19
Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi DNS dan Glukosa	30
Gambar 4.2 Kurva pengaruh suhu Terhadap Aktivitas Enzim Amilase.....	32
Gambar 4.3 Kurva pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim Amilase	34
Gambar 4.4 Kurva pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim Amilase	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Penelitian	46
Lampiran 2 Prosedur Kerja Penelitian	47
Lampiran 3 Pembuatan Kurva Standar Glukosa	54
Lampiran 4 Penentuan Kadar Glukosa pada Variasi Suhu	56
Lampiran 5 Penentuan Kadar Glukosa pada Variasi pH	61
Lampiran 6 Penentuan Kadar Glukosa pad Variasi Konsentrasi Substrat	66
Lampiran 7 Penentuan Kadar Glukosa pad Substrat Alami Kulit Singkog	71
Lampiran 8 Aktivitas Enzim Amilase	72
Lampiran 9 Standar Devisiasi Aktivitas Enzim Amilase	92
Lampiran 10 Dokumentasi Penelitian	100



ABSTRAK

Nama : Nur Alfina

Nim : 60500117045

Judul : Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Karakterisasi ekstrak kasar enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim amilase pada suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum terhadap substrat amilum dan substrat pati kulit singkong. Penentuan aktivitas enzim amilase menggunakan metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) yang diukur dengan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang (λ) 540 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu optimum pada suhu 70 °C dengan aktivitas enzim sebesar 0,116 U/mL, pH 4 dengan aktivitas enzim sebesar 0,049 U/mL, dan konsentrasi substrat 1,25 % dengan aktivitas enzim sebesar 0,044 U/mL. Aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu menggunakan substrat pati kulit singkong sebesar 0,077 U/mL.

Kata Kunci: Karakterisasi, Amilase, Larva Kumbang Sagu, Bakteri Amilolitik.

ABSTRACT

Name : Nur Alfina

Nim : 60500117045

Title : Characterization of R₂M Bacterial Amylase Isolate From Sago Beetle

Larvae

Characterization of amylase crude extract of R₂M bacterial isolates from sago beetle larvae has been investigated. This study aims to determine the activity value of R₂M bacterial isolates from sago beetle larvae at optimum temperature, pH and, concentration as well as optimization using natural cassava peel starch as a substrate. The determination of amylase enzyme activity using the method of 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) as measured by a visible spectrophotometer at a wavelength (λ) of 540 nm. The results of this study showed that the amylase enzyme activity of R₂M bacterial isolates from sago beetle larvae was optimum at a temperature of 70 °C with an enzyme activity of 0,116 U/mL, pH 4 with an enzyme activity of 0,049 U/mL and a substrate concentration of 1.25% with an enzyme activity of 0,044 U/mL. Amylase enzyme activity of R₂M bacterial isolate from sago beetle larvae using substrate of cassava peel starch was 0.077 U/mL.

Keywords: Characterization, Amylase, Sago Beetle Larvae, Amylolytic Bacteria

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan enzim semakin meningkat setiap tahun. Hal ini dikarenakan enzim telah dimanfaatkan dalam bidang industri seperti pada bidang makanan, kimia, medis, dan pembuatan bahan bakar bioetanol. Enzim menjadi salah satu bahan produksi industri karena relatif lebih ekonomis dan mudah didapatkan. Enzim dapat diperoleh dari mikroorganisme yang hidup ditanaman seperti pohon sagu.

Daerah penghasil sagu terbesar di Sulawesi selatan berada pada kawasan Luwu dan Luwu timur (Hamdani, 2019: 39). Pati dari pohon sagu digunakan sebagai bahan makanan. Ampas sagu mengandung pati sekitar 65,7% dan sisanya berupa protein kasar, serat kasar, abu, dan lemak (Kiat, 2006). Pengolahan sagu menyisahkan pohon sagu yang akan membusuk dan menjadi tempat hidupnya mikroorganisme ulat sagu.

Larva ulat sagu bertahan hidup dengan memakan pati dari sisa proses pengolahan tepung sagu dan akan tumbuh menjadi kumbang merah dewasa (Makapagal dan Nelyse., 2019: 51). Jumlah ulat sagu berbanding lurus dengan banyaknya limbah pengolahan sagu. Ulat sagu dapat dijadikan pengganti makanan berprotein tinggi. Menurut Ariani, dkk (2018: 133) bahwa dalam 100 gr tepung ulat sagu mengandung protein sebesar 33,68%, karbohidrat 8,69%, serat 40,3%, lemak 18,09%, dan antioksidan 78,6%. Kandungan dari larva ulat sagu tersebut dapat digunakan untuk memproduksi berbagai enzim seperti enzim amilase yang berasal dari bakteri amilolitik.

Bakteri amilolitik memiliki kemampuan dalam menghidrolisis pati. Choirunnisa, dkk., (2017: 101) melaporkan bahwa bakteri amilolitik *Micrococcus varians* memiliki potensi menghidrolisis amilum tertinggi sebesar 7,23 dengan diameter zona bening sebesar 1,50 cm. Bakteri amilolitik termasuk komponen bakteri termofilik, yaitu mikroorganisme yang mampu bertahan hidup dan berkembang pada suhu yang tinggi. Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim yang cukup stabil salah satunya enzim amilase (Zuraidah, dkk., 2020: 40). Hal ini dijelaskan dalam firman Allah Swt QS. Yunus/10: 61.

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٦١﴾

Terjemahnya:

“Dan tidakkah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu Al-Qur'an serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikitpun dari pengetahuan Tuhan-mu walaupun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh).”

Menurut tafsir Ibnu Katsir menyatakan bahwa Allah memberi kabar kepada nabinya, sesungguhnya Allah mengetahui keadaan umat dan semua makhluk ciptaannya pada tiap jam, menit, dan detik. Tidak ada satupun yang tersembunyi dari pengetahuan dan penglihatannya meski perbuatan sebesar biji zarah yang paling kecil dan paling rendah, baik di langit maupun di bumi. Dan tidak ada yang lebih kecil atau lebih besar daripada itu, kecuali semuanya tercatat dalam kitab yang nyata.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa kuasa Allah swt sangat besar. Allah mengetahui segala sesuatu yang diciptakannya baik di langit dan di bumi sekalipun hanya sebesar biji zarah. Zarah dalam Al-quran disebutkan sebagai bentuk terkecil

dari suatu materi. Mikroorganisme seperti bakteri diketahui sebagai makhluk dengan ukuran yang sangat kecil. Meskipun memiliki bentuk dan ukuran yang kecil, bakteri berperan penting dalam kehidupan manusia, hewan, dan tumbuhan. Enzim amilase dapat diperoleh dari usus pencernaan larva ulat sagu dengan cara isolasi bakteri amilolitik. Menurut Muliani (2020), enzim amilase dapat diperoleh dari usus larva kumbang sagu dengan cara isolasi bakteri. Penelitian tersebut menghasilkan isolat bakteri R₂M, R₃M, R₄M, R₅M, dan R₉M dengan aktivitas tertinggi terdapat pada isolat R₂M sebesar 0,066 U/mL.

Beberapa penelitian terdahulu terkait dengan isolasi bakteri amilolitik dari berbagai jenis larva seperti Kresnawaty, dkk., (2019: 142) yang melaporkan bahwa bakteri amilolitik dapat diisolasi dari larva black soldier fly (*Hermetia illucens*). Kemudian El-Latif (2020) melakukan isolasi enzim amilase dari larva kumbang palem merah (*Rhychophorus ferrugineus*). Menurut Aryati, dkk (2016: 3), bakteri amilolitik *Bacillus subtilis* dapat diisolasi dari usus larva *Oryctes rhinoceros* dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,1447 U/mg. Penggunaan mikroorganisme dalam produksi enzim harus memperhatikan faktor lingkungan seperti suhu, pH, sumber karbon, dan nitrogen. Kondisi tersebut berperan dalam laju produksi enzim (Istia'nah, dkk., 2020: 15).

Karakterisasi enzim digunakan untuk mencari suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum pada enzim. Suhu menjadi faktor penting dalam kinerja enzim. Pada suhu optimum reaksi antara substrat dan enzim sangat efektif sehingga akan meningkatkan nilai produk (Istia'nah, dkk., 2020: 15). Kresnawaty, dkk., (2019: 142) mengatakan bahwa enzim amilase yang diperoleh dari larva black soldier fly (*Hermetia illucens*) bekerja secara optimum pada suhu 70 °C dengan aktivitas enzim sebesar 0.034 U/mg. Menurut El-latif (2020), suhu optimum enzim amilase dari larva

kumbang palem merah (*Rhychophorus ferrugineus*) yaitu 40 °C dengan aktivitas enzim sebesar 0.162 U/mg. Faktor lain yang memengaruhi kinerja enzim yaitu pH.

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh nilai pH. Enzim pada pH optimum dapat mengikat substrat dengan cepat (Tzakiah, dkk., 2017: 20). Menurut Kresnawaty, dkk., (2019: 142), pH optimum enzim amilase dari larva black soldier fly (*Hermetia illucens*) yaitu pH 4 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0.034 U/mg. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa enzim amilase dari usus larva *oryctes rhinoceros* dengan isolat bakteri *Bacillus subtilis* yang optimum pada pH 7 dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0.1447 U/mg (Aryati, dkk (2016: 3). Proses hidrolisis dan nilai aktivitas pada enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat.

Enzim amilase diproduksi dengan substrat yang memiliki kandungan amilum. Menurut Putri (2016: 61), enzim pada konsentrasi substrat optimum dapat bekerja dengan baik membentuk kompleks substrat enzim sehingga menghasilkan nilai aktivitas yang tinggi. Penelitian Isti'annah (2020: 14) memperoleh konsentrasi substrat optimum enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* pada konsentrasi 1,5% dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,548 U/mL. Jenis substrat pada media produksi dapat mempengaruhi aktivitas enzim.

Limbah agroindustri dapat digunakan sebagai substrat alami dalam produksi enzim. Hal tersebut juga dapat membantu mengurangi pencemaran lingkungan (Mojsov, 2012: 592). Soeaka, dkk., (2015: 264) menggunakan substrat alami yang terdiri dari tepung tapioka, dedak padi, dan karboksimetil selulosa dengan nilai aktivitas enzim amilase sebesar 918,97 U/mL. Penelitian lainnya menggunakan substrat alami dari kulit kentang, kulit singkong, kulit jeruk, limbah kurma, dedak padi, dan dedak gandum (Afrisham, dkk., 2016: 18). Kulit singkong memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi sebesar 29,84% (Pooja, 2015: 6).

Noer Khalifah (2019) melaporkan bahwa dalam 500 gram kulit singkong mengandung pati sebesar 27,269%. Pati tersebut berpotensi untuk digunakan sebagai sumber nutrisi enzim amilase.

Berdasarkan latar belakang di atas, kinerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, dan konsentrasi substrat. Maka dilakukan penelitian, karakterisasi enzim amilase dari isolat bakteri R₂M larva kumbang sagu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal dan aktivitas enzim amilase pada variasi pH, suhu, dan konsentrasi substrat dalam menghidrolisis substrat pati.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu pada suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum ?
2. Berapa aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu pada substrat kulit singkong ?

C. Tujuan Penelitian

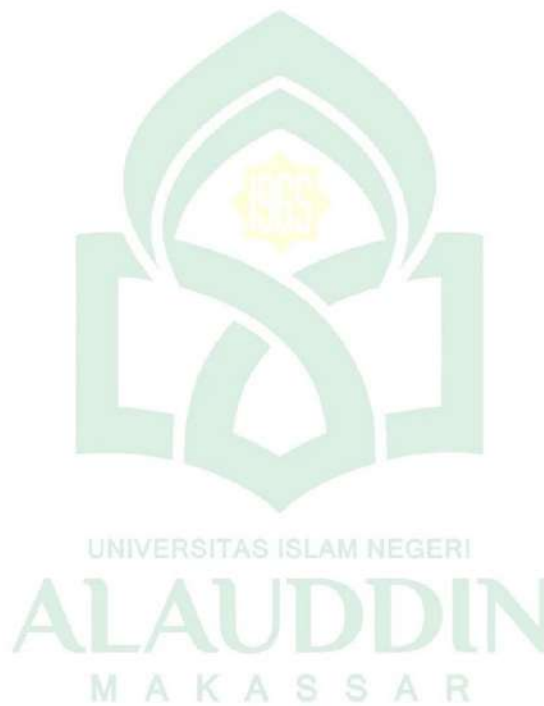
Tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu pada suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum.
2. Mengetahui aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu pada substrat pati kulit singkong.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan pemahaman kepada penulis dan masyarakat mengenai manfaat larva kumbang sagu yang dapat menghasilkan enzim.
2. Memberikan informasi kepada penulis dan pembaca mengenai kondisi optimum enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sagu (*Metroxylon Sagu Rottb*)

Pohon sagu merupakan tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Luas daerah sagu di Indonesia sebesar 60% dari luas tanaman sagu didunia (Sentosa, 2019: 2). Penyebaran wilayah tanaman sagu meliputi Maluku, Papua, Sulawesi serta daerah lainnya. Tumbuhan sagu dapat hidup diberbagai jenis kondisi tanah seperti di daerah rawa, banjir, pH rendah, dan konsentrasi logam tinggi (Abidin, dkk., 2019: 308).



Gambar 2.1 Pohon Sagu (*Metroxylon* sp)
(Sumber: M Nurhaedah, 2014: 99)

Adapun klasifikasi dari tanaman sagu (*Metroxylon*sp) menurut (Tjirosoepomo, 1993 dalam Vita 2017: 122) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Subdivision	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Arecales
famili	: Arecaceae
Genus	: <i>Metroxylon</i>
Spesies	: <i>Metroxylon sagu</i>

Masyarakat memanfaatkan tanaman sagu sebagai bahan makananan. Satu batang tanaman sagu dapat diperoleh kandungan pati sebesar 89-90 kg. Selain untuk dikonsumsi, tanaman sagu juga digunakan sebagai pakan ternak dan bahan bangunan dengan memanfaatkan daun dan kayu tanaman (Putri, 2019: 1092). Tanaman sagu memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan oleh makhluk hidup. Hal ini telah dijelaskan dalam firman Allah Swt QS. Asy-syu'ara/26: 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Terjemahnya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”.

Berdasarkan tafsir Al-Maraghi menjelaskan apakah mereka akan terus-menerus tenggelam dalam kekufuran terhadap Allah dan pendustaan terhadap rasulnya. Dan apakah mereka tidak berpikir tentang berbagai keajaiban kekuasaan-Nya, tidak pula memperhatikan bumi dengan berbagai jenis, bentuk dan warna tumbuh-tumbuhannya yang membuktikan kekuasaan serta kekuatan Allah yang maha tinggi dan maha besar (Tafsir Al-Maraghi: 80). Sebagaimana dalam ayat lain yaitu pada QS. Tha-ha/20: 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Terjemahnya:

“Dia yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Berdasarkan tafsir Al-Misbah menjelaskan Dia yakni Allah yang telah menjadikan bagi kamu hai Fir'aun dan seluruh manusia sebagian besar bumi sebagai hamparan dan menjadikan sebagian kecil lainnya gunung-gunung untuk menjaga kestabilan bumi dan dia yakni Tuhan itu juga yang telah menjadikan bagi kamu di bumi itu jalan-jalan yang mudah kamu tempuh, dan menurunkan dari langit air yakni hujan sehingga tercipta sungai-sungai dan danau, maka kami tumbuhkan dengannya yakni dengan perantaraan hujan itu berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam jenis, bentuk, rasa, warna, dan manfaatnya (Al-Misbah, 2002: 316).

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah swt telah menciptakan berbagai jenis tumbuhan di bumi. Tumbuhan memiliki banyak manfaat bagi makhluk hidup seperti tanaman sagu yang digunakan sebagai bahan makanan oleh masyarakat. Tanaman sagu memiliki kandungan amilosa sebesar 27.4% dan amilopektin sebesar 72.6 % (Faijah, dkk., 2020: 202). Alternatif pengganti sumber energi dapat menggunakan tanaman yang melimpah seperti sagu. Konsumsi pati sagu di Indonesia diperkirakan hanya sebesar 210 ton sedangkan Indonesia memproduksi pati kering dari sagu sebesar 5 juta ton per tahunnya (Santoso, 2017: 54).

B. Larva Kumbang Sagu (*Rhynchophorus ferrugineus*)

Pengolahan sagu secara konvensional menyisahkan ampas dan limbah batang sagu. Batang dan tual yang sudah tidak dimanfaatkan akan mendatangkan serangga herbivator, predator dan detritivor (Senewe, dkk., 2017: 18). Hal ini membuat mikroorganisme seperti larva kumbang sagu dapat tumbuh di batang pohon. Pembusukan pada batang akan mengundang munculnya kumbang dengan menghasilkan larva ulat sagu (*Rhynchoporus* sp) (Ariani, 2018: 132).

Larva kumbang sagu terdiri dari beberapa jenis salah satunya yaitu *R. Bilineatus*. Larva jenis *R. Bilineatus* berasal dari Indonesia khususnya daerah papua yang mengandung zat gizi mikro antara lain tokoferol, tokotrienol, dan mineral. Kandungan tersebut digunakan sebagai bahan alternatif asam lemak, minyak, asam amino, dan protein sebagai sumber gizi. Cacing sagu berasal dari sisa penembangan pohon sagu yang telah diambil patinya. Satu batang pohon sagu dapat menghasilkan sekitar 500-600 ulat sagu (Khloer, Ream 2020: 2). Peningkatan jumlah ulat sagu berbanding lurus dengan banyaknya limbah tanaman sagu.



Gambar 2.2. Larva Kumbang Sagu
(Sumber: Bustaman, 2008: 53)

Klasifikasi Larva Kumbang sagu (*Rhyrchopus* sp.) menurut (Kalshoven, 1981 dalam Hastuty, 2016: 14) yaitu sebagai berikut:

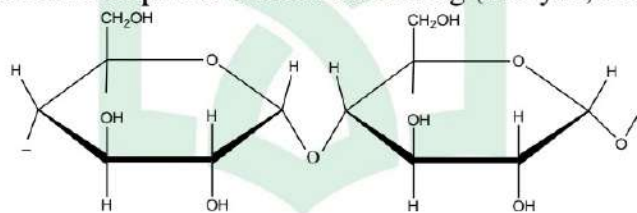
Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Coleoptera
Family	: Curculionidae
Genus	: Rhynchophorus
Spesies	: <i>R.ferrugineus</i>

Kadar protein pada ulat *Rhynchophorus ferrugines* sebesar 2,75%. Pertumbuhan ulat sagu memerlukan waktu sekitar 100-175 hari dan dimulai dari

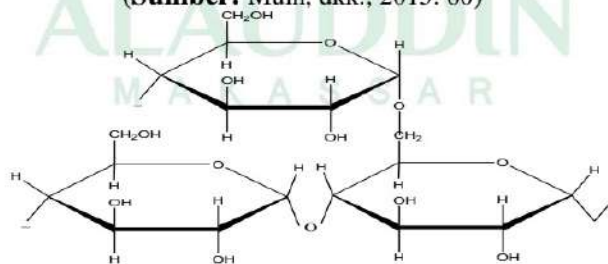
telur, perupa, pupa, dan fase dewasa (*imago*). Ulat sagu *Rhynchophorus ferrugines* memiliki ciri fisik berwarna putih kekuningan. Ulat sagu dalam keadaan basah maupun kering memiliki kemiripan dalam senyawa penyusunnya. Pada ulat sagu yang basah mengandung air 64,21 %, protein 13,80 % dan lemak 18,09 % kemudian untuk ulat sagu dalam keadaan kering mengandung kadar air 67,5%, abu 2,45%, protein 11,47% dan lemak 18,25% (Ariandi, dkk., 2019: 8-10).

C. Amilum

Amilum atau pati ($C_6H_{10}O_5$)_n termasuk homopolimer glukosa ikatan α -glikosidik (Pramesti, dkk., 27: 2015). Amilum terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan ikatan 1,4-glikosidik yang memiliki komponen struktur yang tidak bercabang. Kemudian amilopektin merupakan ikatan 1,6 glikosidik yang memiliki komponen struktur bercabang (Fitriyah, dkk., 2020: 157).



Gambar 2.3 Struktur Amilosa
(Sumber: Muin, dkk., 2015: 60)



Gambar 2.4. Struktur Amilopektin
(Sumber: Muin, dkk., 2015: 61)

Amilosa memiliki sifat pengeras dan amilopektin bersifat lengket. Berat molekul amilosa sebesar 10.000-60.000 dan amilopektin 60.000-100.000 (Aripin, dkk., 2017: 19). Amilosa mempunyai kemampuan untuk larut dalam air

panas sedangkan amilopektin tidak mampu larut dalam air panas (Nursamsiar, dkk., 2016: 69). Kadar amilosa dan amilopektin pada beberapa tumbuhan yang mengandung pati (Nisah, 2017: 110) dapat dilihat pada table 2.1 dibawah ini:

Tabel 2.1 Kadar Amilosa dan Amilopektin pada Tumbuhan

Pati	Amilosa	Amilopektin
Sagu	21,7%	62,51%
Garut	19,4%	59,35%
Ubi Kayu	18,0%	60,15%

Kandungan pati yang tinggi dapat dimanfaatkan dalam pembuatan *edibele film* (Pramesti, dkk., 2015: 29). Penelitian Riyanto, dkk., (2017: 16) membuat *edible fim* dari bahan dasar pati gandum dengan penambahan sorbitol. Dunia industri memanfaatkan amilum karena dapat diolah secara enzimatis maupun kimiawi dan bahan yang mengandung amilum mudah didapatkan di alam (Kiti, 2020: 7). .

D. Bakteri Amilolitik

Bakteri amilolitik adalah bakteri yang dapat memecah pati menjadi glukosa dan memproduksi enzim amilase (Zubaidah, dkk., 2019: 262). Sebuah bakteri dapat diketahui aktivitas amilolitiknya dengan pengujian iodin, jika terdapat zona bening disekitar koloni yang ditetesi iodin maka bakteri tersebut termasuk bakteri amilolitik (Saridewi, dkk., 2020: 5). Isolat yang teridentifikasi memiliki aktivitas amilolitik akan menghidrolisis pati yang terdapat pada substrat (Sarasititi, dkk., 2019: 12). Bakteri amilolitik termasuk bakteri termofilik yang mampu hidup di suhu yang cukup tinggi tapi tidak semua bakteri jenis termofilik dapat mendegradasi pati (Zuraidah, dkk., 2020: 46).

Bakteri amilolitik dapat diisolasi dari lingkungan sekitar. Penelitian Hasniar (2016: 216) menguji bakteri asam laktat yang berasal dari lobster air tawar dimana 7 isolat dapat menghidrolisis pati yang terdapat pada substratnya dan menghasilkan zona bening pada media agar. Bakteri juga dapat diisolasi dari limbah rumah tangga yang memiliki potensi aktivitas amilolitik seperti limbah makanan yang mengandung pati (Hasan, dkk., 2017: 4). Menurut Yusmarini (2017: 99), isolasi bakteri asam laktat dari limbah pengolahan sagu menghasilkan isolat bersifat amilolitik dengan terbentuknya zona bening yang menandakan adanya kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim amilase. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka kemampuan dalam menghasilkan enzim amilase semakin besar.

E. Enzim Amilase

Enzim merupakan protein yang memiliki peran sebagai katalis atau dikenal sebagai biokatalis. Sifat katalis pada enzim mampu mengaktifkan senyawa dan mempercepat laju reaksi. Enzim dapat digunakan dalam proses hidrolisis, cara kerja enzim dengan mengubah substrat menjadi senyawa baru seperti menghidrolisis pati menjadi glukosa. Menurut Samsuri, dkk (2007: 20), suatu reaksi kimia yang tidak menggunakan enzim akan berlangsung lebih lama.

Enzim amilase dapat diperoleh dari berbagai mikroorganisme seperti bakteri asam laktat (BAL). Penelitian Kiti (2020: 8) melakukan isolasi bakteri asam laktat dari pangan tradisional aceh pilek u. Isolat diidentifikasi sebagai bakteri amilolitik karena kemampuannya dalam menghidrolisis substrat amilum yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Zona bening terbentuk karena adanya proses pemecahan senyawa sederhana menjadi monosakarida atau disakarida yang memproduksi amilase.

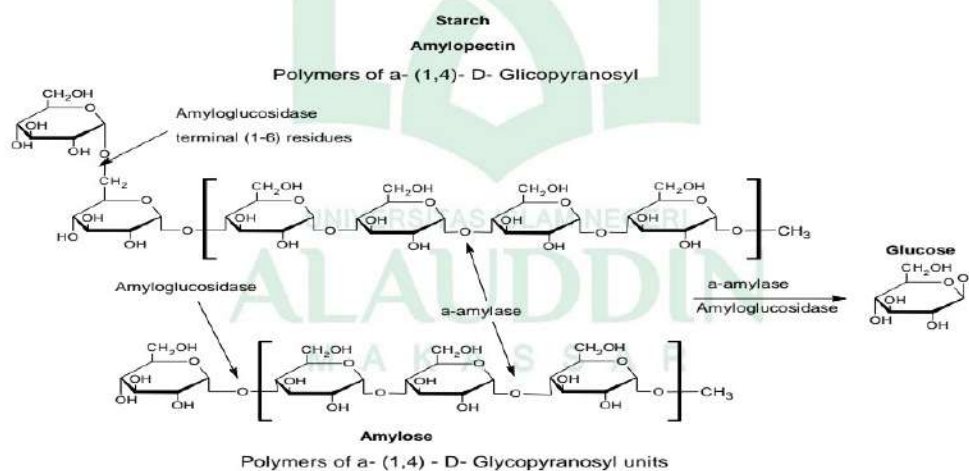
Enzim amilase (endo-1,4- α -D-glikosidik) merupakan katalis yang berperan dalam reaksi hidrolisis pati oleh air (Puspitasari, 2019: 2). Enzim α -amilase merupakan enzim golongan hidrolase yang memiliki kemampuan dalam memutuskan ikatan α -1,4-glukosida dalam senyawa pati menjadi senyawa-senyawa sederhana antara lain oligosakarida (maltoriosa), disakarida (maltosa), dan monosakarida (glukosa) (Gumelar dan Dicky, 2020: 69). Kerja enzim dipengaruhi oleh suhu, pH lingkungan dan konsentrasi substrat (Asadullah, 2014: 25).

Hidrolisis dapat dilakukan dengan dua cara, diantaranya hidrolisis dengan asam dan hidrolisis dengan enzim. Menurut Fuadi dan Harismah (2017: 9-10), efektivitas hidrolisis enzimatis lebih baik dibanding dengan hidrolisis asam. Proses hidrolisis menggunakan asam memerlukan energi yang besar dan suhu pemakaian yang tinggi sedangkan hidrolisis enzimatis dapat bekerja dalam suhu yang rendah dan menghasilkan glukosa yang besar. Proses hidrolisis secara enzimatis terdiri dari tiga tahap yaitu likuifikasi, gelatinasi, dan sakarifikasi (Ratna dan Yulistani, 2015: 10).

Gelatinasi adalah proses pemanasan yang terjadi antara pati dan air. Suhu pemanasan pada larutan harus diperhatikan karena jika suhu terlalu tinggi akan merubah struktur pada senyawa pati yang ditandai dengan larutan substrat yang sangat kental. Proses likuifikasi berlangsung dengan memutuskan ikatan polisakarida pada senyawa pati dengan penambahan enzim α -amilase, substrat yang awalnya kental akan mulai mengencer akibat penambahan enzim α -amilase. Proses sakarifikasi terjadi perubahan dekstrin yang didapatkan dari proses likuifikasi menjadi glukosa, glukamilase berperan dalam membantu pemecahan pati dan memproduksi glukosa (Maulani, dkk., 2018: 157). Menurut Arifwan, dkk., (2016: 11), tahap reaksi hidrolisis pati menjadi etanol adalah sebagai berikut:



Enzim amilase diisolasi dari bakteri amilolitik dihasilkan secara ekstraseluler. Enzim akan mengubah pati menjadi senyawa sederhana dan menggunakannya sebagai sumber energi dan makanan selama proses hidup. Hasil degradasi dari enzim amilase ekstraseluler berupa senyawa glukosa (Kartikasari, dkk., 2016: 16). Enzim α -amilase mempunyai sifat endoenzim yang akan menghirolisis ikatan α -1,4-glukosida pada amilosa dan amilopektin. Hidrolisis pada amilosa akan menghasilkan dekstrin akibat proses pemutusan pada pati yang akan berlanjut ke proses pemotongan dan menghasilkan maltosa dan maltoriosa sedangkan pada amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltose, dan berbagai jenis α -limit dekstrin dan oligosakarida (Sutikno, dkk., 2016: 8)



Gambar 2.5 Mekanisme Kerja Enzim Amilase

(Sumber: Asadullah, 2014: 46)

Enzim amilase terbagi menjadi tiga jenis yaitu α -amilase, β -amilase, dan glukamilase (Singh, 2011: 488). Enzim α -amilase dapat memecah karbohidrat rantai panjang pada pati. Enzim α -amilase menghasilkan maltoriosa dan maltosa dari

amilosa beserta maltose dan glukosa dari amilopektin. Enzim ini bekerja dengan menghidrolisis ikatan α -1,4 pada rantai amilosa. Enzim β -amilase menghidrolisis ikatan glikosidik dengan membelah dua unit glukosa. Enzim β -amilase bekerja dengan memutuskan ikatan α -1,4 pada rantai amilum yang belum seluruhnya terputus. Enzim Glukoamilase membelah ikatan α (1-4) glikosidik pada amilosa dan amilopektin yang menghasilkan glukosa. Enzim ini juga menghidrolisis ikatan α (1-6) pada bercabangan dengan kecepatan yang lebih rendah (Ratri, dkk., 2009: 37). Enzim amilase telah digunakan dalam berbagai bidang industri seperti industri pangan dan non pangan (Mojsov, 2012: 592). Enzim amilase dapat mendegradasi ikatan α -1,4-D-glukosa yang terdapat dalam amilosa dan α -1,6-D-glukosa pada amilopektin. Enzim ini bekerja dengan cara memecah ikatan pada molekul pati. Menurut Ariandi (2016: 77), glukosa terbentuk dari reaksi hidrolisis yang terjadi antara enzim amilase dan molekul substrat pati.

Bioetanol dapat diperoleh dari sampah organik dan limbah pertanian dengan proses hidrolisis menggunakan enzim amilase (Susmiati, 2018). Penelitian Arifwan, dkk., (2016: 11) membuat bioetanol menggunakan pati dari singkong karet dengan penambahan enzim amilase. Konsentrasi etanol tertinggi yang diperoleh sebesar 28,183 %. Enzim amilase dapat diperoleh dari mikroba antara lain jamur, ragi, dan bakteri (Gopinath, dkk., 2017: 2).

F. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pengaruh suhu, pH, dan konsentrasi substrat. Suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi pada enzim. Menurut Phieter, dkk (2020: 46), saat suhu dinaikan akan mempercepat laju reaksi tetapi jika suhu terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya

denaturasi yang memutuskan struktur enzim dan menyebabkan enzim tidak bekerja dengan baik.

Enzim merupakan protein yang sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan. Perubahan nilai pH dapat memengaruhi aktivitas enzim. Pada kondisi pH optimum suatu enzim yang dapat mengkatalis reaksi dengan baik. Sedangkan pada pH yang tidak sesuai akan menyebabkan berkurangnya efektivitas pada enzim (Idiawati, dkk., 2014: 5). Kondisi pada pH rendah dan tinggi akan menyebabkan denaturasi pada enzim. Hal tersebut mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Oleh karena itu setiap enzim memiliki nilai pH optimum yang berbeda-beda (Irawati, 2016: 17).

Pemilihan substrat dan konsentrasi substrat juga merupakan salah satu hal penting dalam meningkatkan aktivitas enzim. Menurut Irawati (2016: 17), konsentrasi substrat berbanding lurus dengan aktivitas enzim. Pada konsentrasi substrat rendah, enzim hanya sedikit mengangkat substrat sehingga menghasilkan gula yang kecil. Sedangkan pada konsentrasi substrat yang besar, enzim mengikat substrat semakin banyak sehingga gula yang dihasilkan juga semakin besar. Menurut Soeka, dkk (2015: 264), pemilihan jenis substrat memengaruhi aktivitas enzim. Substrat yang digunakan pada penelitian tersebut dimodifikasi dengan bahan tepung tapioka, dedak padi, dan karboksilmetil selulosa. Hasil yang diperoleh dapat meningkatkan aktivitas enzim amilase.

Beberapa penelitian terdahulu terkait dengan karakterisasi enzim amilase seperti yang telah dilakukan oleh Supriyatna (2015:28) melaporkan bahwa larva *Hermetia illucens* dapat menghasilkan enzim amilase, lipase, dan protease menggunakan substrat jerami padi. Hasil yang diperoleh memiliki karakterisasi dan nilai aktivitas yang berbeda-beda. Aktivitas enzim amilase yang diperoleh sebesar 0,42 U/mL. Gunasekhar (2019) menggunakan larva ulat sutera (*Bombyx mori* L.)

sebagai sampel yang menghasilkan enzim amilase dengan aktivitas sebesar 0,0279 U/mL. Kemudian Dojnov (2008) melakukan produksi enzim amilase dari usus larva *Morimus funerus* dan menghasilkan aktivitas enzim sebesar 0,43 mg/mL. Penelitian lainnya yaitu Liang, dkk (2015: 5) mengisolasi bakteri dari usus ulat sutera yang menunjukkan bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase dan selulase. Usus mikroorganisme seperti ulat sutera mengandung berbagai macam bakteri diantaranya amilolitik dan selulolitik.

G. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan instrumen yang digunakan dalam pengukuran serapan cahaya pada daerah ultraviolet dan tampak. Prinsip kerja dari Spektrofotometri UV-Vis adalah apabila suatu sinar monokromatik melalui suatu media, maka sebagian sinar akan diserap, sebagian dipantulkan, dan yang lainnya dipancarkan (Bu'ulolo, 2019: 15). Jika suatu molekul yang menyerap sinar tampak dan ultraviolet maka proses yang terjadi yaitu perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju keadaan tereksitasi. Cahaya yang dapat diukur adalah cahaya transmisi atau absorbansi (Neldawati, dkk., 2013: 78).

Cahaya merupakan energi radiasi yang terdiri dari gelombang dan partikel. Gelombang akan mengalami pembiasan dan pemantulan cahaya pada media dan suatu partikel akan mengalami efek foto listrik. Energi radiasi memiliki gelombang elektromagnetik yang berbeda-beda atau dikenal sebagai spektrum elektromagnetik. Prinsip Spektrofotometri Ultra-violet dan Sinar Tampak berdasarkan hukum Lambert-Beer. Hukum tersebut menjelaskan tentang jumlah cahaya tampak, ultra-violet, dan cahaya lainnya akan diserap atau ditransmisikan pada suatu larutan yang digunakan sebagai fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan larutan (Triyati, 1985: 46).



Gambar 2.6 Alat Spektrofotometer
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Spektrofotometri UV-Vis digunakan dalam analisis kualitatif dan kuantitatif. Keuntungan menggunakan alat ini yaitu memiliki ketelitian yang tinggi, selektif, dapat digunakan oleh banyak zat (organik dan anorganik), dan analisis dapat dilakukan dengan cepat dan akurat (Triyati, 1985: 46). Aktivitas enzim diketahui dengan menghitung kadar gula pereduksi yang dihasilkan menggunakan metode dinitrosalisilat (DNS).

Gula pereduksi dihasilkan dari reaksi antara substrat enzim dan reagen DNS. Alat instrument spektrofotometer UV-Vis digunakan dalam pengukuran aktivitas enzim. Absorbansi diukur pada λ_{mak} 540 nm (Putra, dkk., 2019: 142). Penelitian Afrisham, dkk (2016: 50) melakukan isolasi enzim dari *Bacillus licheniformis* AT70 dengan tahap identifikasi mikroba penghasil enzim amilase hingga menghasilkan enzim α -amilase. Enzim yang diperoleh diuji aktivitasnya menggunakan metode DNS dengan mengukur jumlah gula produksi yang dihasilkan selama proses hidrolisis.

BAB III

METEDOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2021. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biokimia, laboratorium Analitik dan laboratorium Anorganik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar serta laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu spektrofotometer *visible Geneys* 20 (Varian, Amerika Serikat), sentrifus dingin *Hermele Z 366 K* (Jerman), Shaker *MASQ 7000* (Thermo Scientific, Amerika Serikat), inkubator *haraeus* (Thermo Scientific, Jerman), oven *GmbH* (Mettler, Jerman), autoklaf *GEA yx-280 D* (Jerman), *laminar air flow Isocide* 14644-1 (Esco, Amerika Serikat), vortex mixer Wizard (Velp Scientifica, Italia), neraca analitik ABJ 220-4M (Kern, Jerman), penangas listrik S-300 (Maspion, Indonesia), alat-alat gelas *pyrex*, pembakar supritus, jarum ose, rak tabung, dan gegep.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuades (H_2O), alkohol (C_2H_5OH) 70 %, aluminium foil, amilum 1%, asam asetat (CH_3COOH), buffer asetat pH 4 dan 5, buffer fosfat M pH 6, 7, dan 8, Glukosa ($C_6H_{12}O_6$), isolat bakteri R₂M yang diperoleh dari larva kumbang sagu di Desa Tulak Tallu, Kecamatan Sabbang Kabupaten Luwu Utara Sulawesi Selatan, kalium nitrat (KNO_3), magnesium sulfat

(MgSO₄), monokalium fosfat (KH₂PO₄), natrium asetat (NaCH₃COO), natrium dihidrogen fosfat (NaH₂PO₄), natrium hidrogen fosfat (Na₂HPO₄), natrium hidroksida (NaOH), natrium kalium tartarat (KNa.C₄H₄O₆.4H₂O), natrium sulfit (Na₂SO₃), nutrien agar (NA), nutrien broth (NB), plastik *wrapping*, pereaksi dinitrosalisilat (DNS) p.a, tissu dan *waterone*.

C. Prosedur Kerja

1. Pembuatan Media

a. Pembuatan Media Inokulum

Media inokulum dibuat dengan melarutkan 1 gram amilum, 2,5 gram *nutrient broth*, 0,02 gram MgSO₄, 0,7 gram KNO₃, 0,05 KH₂PO₄, dan 0,2 ekstrak ragi dalam 100 mL akuades. Kemudian campuran media inokulum disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya media inokulum didinginkan pada suhu ruang (Agustina, 2018: 30-31).

b. Pembuatan Media Produksi

Media produksi dibuat dengan melarutkan 5 gram amilum, 12,5 gram *nutrient broth*, 0,1 gram MgSO₄, 3,5 gram KNO₃, 0,25 KH₂PO₄, dan 1 gram ekstrak ragi dalam 500 mL akuades. Kemudian campuran media inokulum disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya media produksi didinginkan pada suhu ruang (Agustina, 2018: 30-31).

2. Produksi Enzim Amilase

a. Penyiapan Inokulum

Isolat larva kumbang sagu diambil dari media agar sebanyak 5 ose. Isolat dipindahkan ke dalam media inokulum secara aseptis. Kemudian dihomogenkan dalam shaker dengan kecepatan 180 rpm selama 24 jam (Assegaf, 2017: 28-29).

b. Produksi Ekstrak Kasar Enzim

Media inokulum dipipet sebanyak 75 mL dan dimasukkan ke dalam media produksi 500 mL. Kemudian campuran dihomogenkan menggunakan shaker dengan kecepatan 180 rpm selama 48 jam. Selanjutnya dipisahkan antara supernatan dan residu menggunakan alat sentrifugator dengan kecepatan 4500 rpm pada suhu 4 °C selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim amilase. Kemudian ekstrak kasar enzim disimpan dalam lemari pendingin (Assegaf, 2017: 28-29).

3. Persiapan Reagen dan Standar Glukosa

a. Pembuatan Pereaksi DNS

Pereaksi DNS dibuat dengan menimbang 1 gram DNS, 1 gram natrium hidroksida (NaOH), 1 gram natrium sulfat (Na_2SO_4), dan 18,2 gram K-Na tartarat. Kemudian campuran dilarutkan dalam 100 mL *waterone* dan dihomogenkan. Lalu campuran yang telah jadi dimasukkan ke dalam botol reagen dan disimpan di lemari pendingin (Pertiwi, 2016: 19).

b. Pembuatan larutan buffer Asetat pH 4 dan 5

Buffer asetat dibuat dengan cara campuran larutan A (CH_3COOH) dan larutan B (CH_3COONa). Sebanyak 12 mL asam asetat (CH_3COOH) dimasukkan ke dalam *waterone* sebanyak 100 mL. Sebanyak 2,7 gram natrium asetat (CH_3COONa) dilarutkan ke dalam *waterone* sebanyak 100 mL. Larutan buffer pH 4 dibuat dengan mencampurkan sebanyak 80 mL larutan A dan 40 mL larutan B. Larutan buffer pH 5 dibuat dengan mencampurkan sebanyak 30 mL larutan A dan 80 mL larutan B. Kemudian masing-masing campuran dihomogenkan dan disimpan dalam botol (Pertiwi, 2017).

c. Pembuatan Buffer Fosfat pH 6, 7, dan 8

Buffer fosfat dibuat dengan cara campuran larutan A (Na_2HPO_4) dan larutan B (NaH_2PO_4). Sebanyak 3,5598 gram natrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) dilarutkan ke dalam *waterone* sebanyak 200 mL. Sebanyak 3,1202 gram natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) dilarutkan ke dalam *waterone* sebanyak 200 mL. Larutan buffer pH 6 dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 12,3 mL larutan A dan 87,7 mL larutan B. Larutan buffer pH 7 dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 61,1 mL larutan A dan 38,9 mL larutan B. Larutan pH 8 dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 94,7 mL larutan A dan 5,3 mL larutan B. Kemudian masing-masing campuran dihomogenkan dan disimpan dalam botol (Pertiwi, 2017).

d. Pembuatan Larutan Standar Glukosa

Larutan standar glukosa dibuat dengan larutan induk glukosa 1 mg/mL. Larutan induk glukosa dibuat dengan 0,025 gram glukosa. Kemudian glukosa dilarutkan dengan *waterone* sampai volume 25 mL. Larutan induk diencerkan hingga diperoleh konsentrasi (0,1 mg/mL; 0,2 mg/mL; 0,4 mg/mL; 0,6 mg/mL; dan 0,8 mg/mL) dalam 5 mL *waterone*. Kemudian dipipet 3 mL deret standar glukosa (0,1 mg/mL; 0,2 mg/mL; 0,4 mg/mL; 0,6 mg/mL; dan 0,8 mg/mL) dan 3 mL blanko ke dalam masing-masing tabung reaksi. Selanjutnya larutan standar ditambahkan 3 mL reagen DNS dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit. Setelah dingin diukur larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Azizah, 2017).

4. Karakterisasi Enzim Amilase Isolat bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

a. Penentuan Suhu Optimum

Larutan amilum 1% dan larutan buffer fosfat pH 7 sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam 5 tabung reaksi. Kemudian campuran ditambahkan 2 mL ekstrak enzim amilase. Campuran diinkubasi pada variasi suhu 30, 40, 50, 60, dan 70 °C selama 15 menit. Setelah diinkubasi campuran ditambahkan larutan DNS sebanyak 2 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit. Setelah dingin diukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 540 nm (Istia'nah, dkk., 2020: 15).

b. Penentuan pH optimum

Larutan Amilum 1% dan larutan buffer (buffer asetat pH 4,5,6, dan buffer fosfat pH 6,7,8) sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam 5 reaksi. Selanjutnya campuran ditambahkan 2 mL ekstrak kasar enzim amilase. Campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu 15 menit. Setelah diinkubasi campuran ditambahkan larutan DNS sebanyak 2 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit. Setelah dingin diukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 540 nm (Istia'nah, dkk., 2020: 15).

c. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Larutan amilum dengan variasi konsentrasi 1,0%; 1,25%; 1,50%; 1,75; dan 2,0 % dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi. Selanjutnya campuran ditambahkan buffer pH 7 sebanyak 2 mL dan ekstrak kasar enzim sebanyak 2 mL. Campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu 15 menit. Setelah diinkubasi

campuran ditambahkan larutan DNS sebanyak 2 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit. Setelah dingin diukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 540 nm (Istia'nah, dkk., 2020: 15).

5. Aktivitas Enzim Amilase Substrat Alami Pati Kulit Singkong

a. Ekstraksi Pati Kulit Singkong

Ekstraksi pati kulit singkong dibuat dengan cara membersihkan kulit singkong dari kulit luar dan dicuci hingga bersih. Sampel yang telah bersih ditimbang sebanyak 600 gram. Kemudian sampel ditambahkan air dan dihaluskan menggunakan blender. Larutan disaring, lalu didiamkan hingga terbentuk endapan. Endapan yang diperoleh didekantasi menggunakan aquades. Selanjutnya didiamkan hingga terbentuk endapan dan disaring kembali. Residu yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C selama 7 jam (Tur-ridha, 2019: 26)

b. Aktivitas Enzim Amilase Substrat Alami Pati Kulit Singkong

Amilum kulit singkong dengan konsentrasi 1,25 % ditambahkan sebanyak 2 mL ke dalam masing-masing tabung reaksi. Kemudian campuran ditambahkan buffer pH 4 sebanyak 2 mL dan ekstrak kasar enzim amilase sebanyak 2 mL. Campuran diinkubasi pada suhu 70 °C selama 15 menit. Campuran ditambahkan reagen DNS sebanyak 2 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah diinkubasi campuran ditambahkan larutan DNS sebanyak 2 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit. Setelah dingin campuran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang (λ) 540 nm. Satu unit aktivitas amilase diartikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas

1 μmol gula pereduksi/menit (Asadullah, 2014). Aktivitas enzim amilase dinyatakan dalam persamaan:

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu \frac{\text{mol}}{\text{mmol}}$$

Keterangan:

[glukosa] = Kadar glukosa (mg/mL)

Fp = Faktor Pengenceran

BM = Bobot molekul (mg/mmol)

VE = Volume enzim (mL)

VS = Volume substrat (mL)

t = Waktu inkubasi (menit)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Karakterisasi enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu dilakukan dalam beberapa tahap di antaranya penentuan suhu optimum pH optimum, dan konsentrasi substrat optimum. Hasil karakterisasi enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu dapat dilihat sebagai berikut:

1. Suhu Optimum Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Penentuan suhu optimum menggunakan kondisi pH 7 dan konsentrasi substrat amilum 1%. Hasil penelitian aktivitas enzim amilase dari larva kumbang sagu terhadap karakterisasi suhu dapat dilihat sebagai berikut:

Table 4.1 Hasil Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M pada Suhu

Suhu	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL) \pm SE
30 °C	0,487	0,165	0,063 \pm 0,011
40 °C	0,646	0,226	0,083 \pm 0,010
50 °C	0,658	0,230	0,085 \pm 0,006
60 °C	0,670	0,234	0,086 \pm 0,008
70 °C	0,914	0,314	0,116 \pm 0,001

2. pH Optimum Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Penentuan pH optimum menggunakan kondisi suhu 37 °C dan konsentrasi substrat amilum 1%. Hasil penelitian aktivitas enzim amilase dari larva kumbang sagu terhadap karakterisasi pH dapat dilihat sebagai berikut:

Table 4.2 Hasil Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M pada pH

pH	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL) \pm SE
4	0,370	0,135	0,049 \pm 0,001
5	0,335	0,123	0,045 \pm 0,005
6	0,319	0,118	0,043 \pm 0,002
7	0,303	0,113	0,041 \pm 0,001
8	0,235	0,090	0,032 \pm 0,001

3. Konsentrasi Substrat Optimum Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Penentuan konsentrasi substrat optimum menggunakan kondisi suhu 37 °C dan pH 7. Hasil penelitian aktivitas enzim amilase dari larva kumbang sagu terhadap karakterisasi substrat optimum dapat dilihat sebagai berikut:

Table 4.3 Hasil Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M pada Konsentrasi Substrat

Konsentrasi Substrat	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL) \pm SE
1,0 %	0,240	0,046	0,034 \pm 0,012
1,25 %	0,328	0,121	0,044 \pm 0,003
1,50 %	0,311	0,115	0,042 \pm 0,004
1,75 %	0,278	0,104	0,038 \pm 0,005
2,0 %	0,267	0,0101	0,037 \pm 0,005

4. Aktivitas Enzim Amilase Isolat bakteri R₂M dari larva Kumbang Sagu pada Substrat Alami Kulit Singkong

Pati yang dihasilkan dari ekstraksi pati kulit singkong sebesar 37,1292 gram dalam 600 gram kulit singkong. Aktivitas enzim amilase pada substrat alami pati kulit singkong pada suhu 70 °C, pH 4 dan konsentrasi substrat 1,25 adalah 0,077 U/mL.

B. Pembahasan

1. Produksi Enzim Amilase

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri amilolitik dengan kode R₂M. Muliani (2020) melaporkan bahwa, isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu memiliki aktivitas enzim tertinggi sebesar 0,066 U/mL. Isolat bakteri R₂M mempunyai ukuran kecil, berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan. Menurut Mulian (2020), isolat bakteri amilolitik dari larva kumbang sagu berasal dari genus *Bacillus* sp.

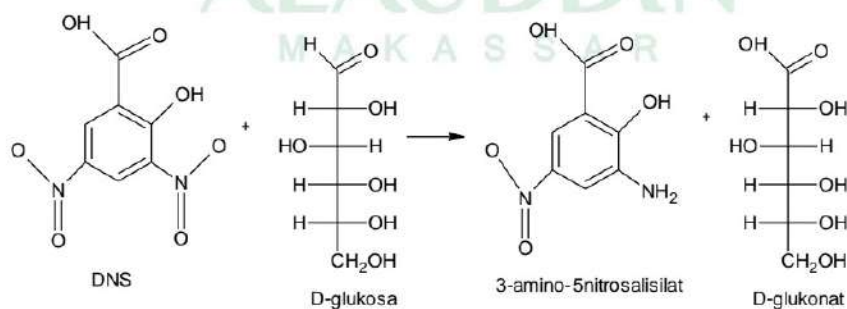
Enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu diproduksi menggunakan media yang mengandung amilum, magnesium sulfat (MgSO₄), kalium nitrat (KNO₃), dikalium hidrofosfat (KH₂PO₄), dan ekstrak ragi. Amilum berfungsi sebagai sumber karbon, magnesium sulfat (MgSO₄) sebagai sumber magnesium, kalium nitrat (KNO₃) sebagai sumber kalium, dikalium hidrofosfat (KH₂PO₄) sebagai sumber ion kalium dan ekstrak ragi sebagai sumber nitrogen. Enzim amilase merupakan enzim ekstraseluler yang akan menghidrolisis pati pada media pertumbuhannya (Setyati dan subagiyo, 2012: 168).

Enzim ekstraseluler dapat diproduksi melalui dinding sel dengan cara sentrifugasi (Saropah, dkk., 2012: 43). Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan sel-sel mikroba dan enzim. Pada penelitian ini proses sentrifugasi menggunakan

kecepatan 4500 rpm dengan suhu 4 °C selama 15 menit. Proses tersebut menggunakan suhu dingin agar enzim tidak mengalami denaturasi (Pratiwi, 2017: 25). Hasil sentriguasi yang berupa endapan keputihan merupakan mikroorganisme dan supernatan yang berupa cairan adalah ekstrak kasar enzim amilase.

2. Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Amilase

Pengukuran aktivitas ekstrak kasar enzim amilase menggunakan metode 3,5 dinitrosalicic acid (DNS). Metode DNS merupakan metode yang umumnya pada analisis gula pereduksi yang dihasilkan oleh pembelahan enzimatik. DNS memiliki kelebihan diantaranya prosedur pengerjaanya yang sederhana dan hanya memerlukan waktu yang singkat untuk bereaksi (Luo, dkk., 2019: 2). Metode DNS bekerja dengan proses reduksi DNS menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat oleh senyawa gula pereduksi (glukosa). Senyawa tersebut menghasilkan warna positif yaitu warna merah kecokelatan. Senyawa 3-amino-5-nitrosalisilat dapat dibaca oleh instrument spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Maka dari itu pengukuran gula reduksi pada penelitian ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm.



Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi DNS dan Glukosa

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa reaksi DNS yang berlangsung meliputi reaksi oksidasi dan reduksi. Reaksi oksidasi terjadi pada gugus aldehyd gula (HCO)

menjadi gugus karboksil (COOH). Kemudian reaksi reduksi terjadi pada DNS yang mengalami penurunan bilangan oksidasi membentuk 3-amino dan asam 5-nitrosalisilat (Asadullah, 2014: 66). Glukosa yang ditambahkan larutan DNS akan mengalami perubahan warna menjadi coklat kekuningan atau jingga (Irawati, 2016: 42).

Pereaksi DNS dibuat dengan penambahan K Na-Tartarat, sodium bisulfit (Na_2SO_3), dan natrium hidroksida (NaOH). DNS mereduksi glukosa pada suasana basa dengan bantuan NaOH. K Na-Tartarat berfungsi untuk menghilangkan senyawa pengganggu dan mempertahankan warna yang terbentuk. Kemudian penambahan Na_2SO_3 berfungsi untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi pada glukosa yang terbentuk (Irawati, 2016: 42).

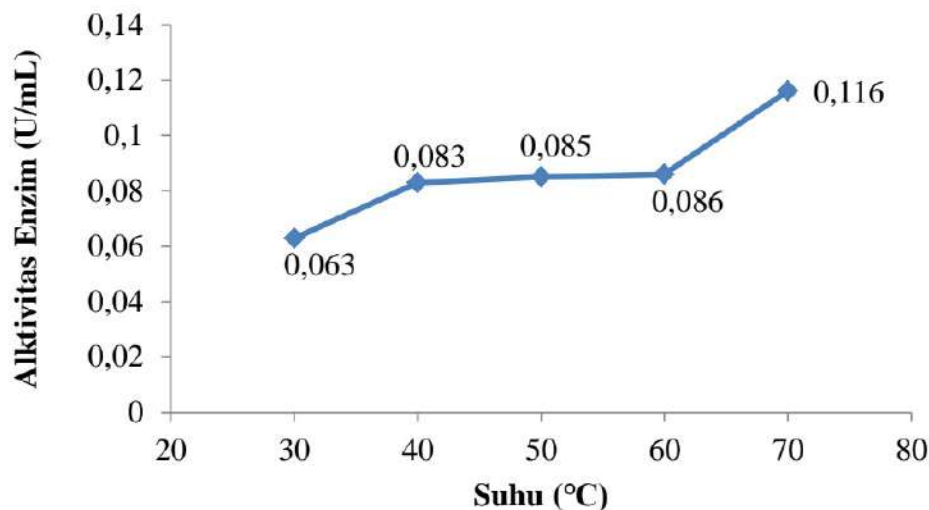
Kurva standar glukosa yang diperoleh yaitu $y = 3,0326x - 0,0414$. Nilai x adalah konsentrasi glukosa dan y merupakan nilai absorbansi dari glukosa pada panjang gelombang 540 nm. Persamaan tersebut dapat digunakan untuk menghitung nilai kadar glukosa dari reaksi ekstrak kasar enzim amilase dan substrat pati. Berdasarkan grafik standar glukosa dapat diketahui bahwa konsentrasi glukosa berbanding lurus dengan nilai absorbansi. Hasil kurva menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi glukosa maka akan menghasilkan nilai absorbansi juga akan semakin tinggi. Kurva standar glukosa dibuat sebagai acuan untuk mengetahui konsentrasi larutan serta nilai absorbansi dari suatu sampel (Irawati, 2016: 42).

3. Karakterisasi Enzim Amilase

3.1 Penentuan Suhu Optimum Enzim Amilase

Suhu merupakan faktor yang memengaruhi kinerja enzim. Berdasarkan pada Tabel 4.1, nilai aktivitas enzim yang diperoleh berbeda-beda terhadap 5 variasi suhu. Aktivitas tertinggi ekstrak kasar enzim amilase terdapat pada suhu

70 °C dengan nilai rata-rata aktivitas enzim sebesar 0,116 U/mL. Kemudian nilai aktivitas terendah terdapat pada suhu 30 °C dengan rata-rata nilai aktivitas sebesar 0,063 U/mL. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase dapat dilihat pada Gambar 4.2 :



Gambar 4.2 Kurva Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Berdasarkan gambar 4.2, suhu optimum ekstrak kasar enzim amilase ialah 70 °C dengan aktivitas enzim sebesar 0,116 U/mL. Suhu optimum merupakan keadaan paling baik untuk enzim bereaksi. Hal tersebut karena pada suhu optimum enzim memiliki efektivitas kerja yang optimal. Pada suhu optimum terjadi tumbukan yang efektif antara enzim dan substrat (Tarigan, 2015: 742).

Hasil penelitian pada isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu cenderung meningkat dari suhu 30-70 °C. Saat suhu meningkat, energi kinetik juga meningkat. Pada keadaan tersebut, laju reaksi akan meningkat sehingga menghasilkan produk dengan cepat dan menghasilkan nilai aktivitas enzim yang tinggi (Nurkhotimah, 2017: 470). Pemberian suhu enzim terlalu tinggi akan menyebabkan denaturasi pada protein yang dapat mengubah struktur protein dalam enzim. Suhu yang terlalu rendah

pada enzim membuat enzim yang bekerja tidak memiliki energi aktivasi yang cukup sehingga menghasilkan produk glukosa yang sedikit (Kresnawaty, dkk., 2019: 143).

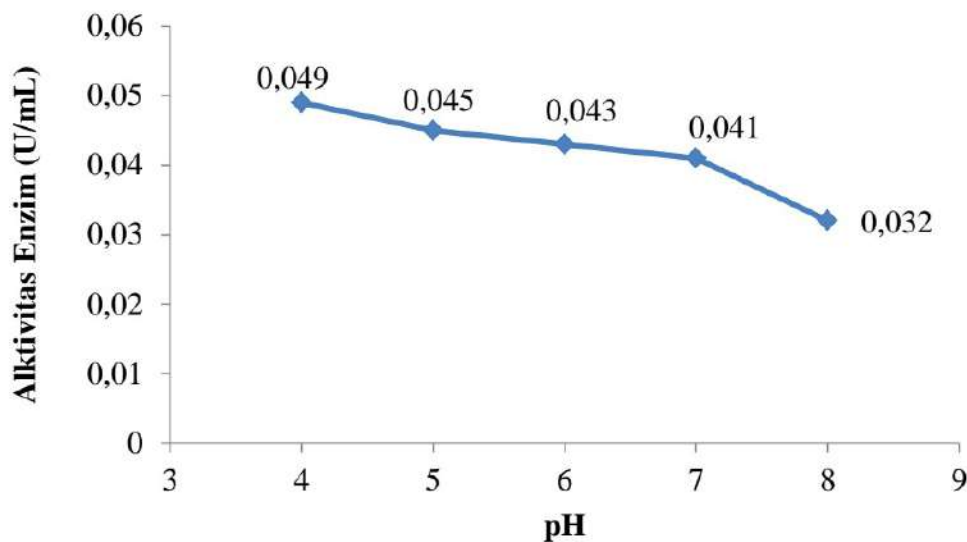
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak kasar enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu bekerja dengan baik pada suhu tinggi. Bakteri amilolitik termasuk bakteri yang dapat hidup di suhu yang tinggi atau dikenal dengan bakteri termofilik. Menurut Guangrong, dkk (2006), bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu hidup dikisaran suhu 30-80 °C. Bakteri tersebut memiliki struktur DNA yang disebut *gyrase*. DNA *gyrase* dapat membentuk superkoil bermuatan positif sehingga bakteri termofilik memiliki ketahanan terhadap suhu panas. DNA bakteri termofilik tersusun dari asam amino arginin dan tirosin (Fitriani, dkk., 2013: 111).

Hasil penelitian membuktikan bahwa enzim amilase dapat bekerja pada suhu yang ekstrem. Simair, dkk., (2017: 7) melakukan karakterisasi enzim amilase dari *Bacillus* sp dan memperoleh suhu optimum enzim tersebut sebesar 65 °C. Kemudian Kresnawaty, dkk (2019: 142) menyatakan ekstrak kasar enzim amilase yang diperoleh dari larva *black soldier* bekerja optimum pada suhu 70 °C dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0,034 U/mL. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa suhu optimum enzim amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* P-001 ialah suhu 60 °C (Deb, dkk 2013: 7). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak kasar enzim amilase dapat digunakan dalam proses kerja yang menggunakan suhu tinggi.

3.2 Penentuan pH Optimum Enzim Amilase

pH merupakan faktor yang memengaruhi laju katalis pada enzim. Berdasarkan pada Tabel 4.2, nilai aktivitas enzim yang diperoleh berbeda-beda terhadap 5 variasi pH. Aktivitas tertinggi ekstrak kasar enzim amilase terdapat pada pH 4 dengan nilai rata-rata aktivitas enzim sebesar 0,049 U/mL. Kemudian nilai

aktivitas terendah terdapat pada pH 8 dengan rata-rata nilai aktivitas sebesar 0,032 U/mL. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amilase dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Berdasarkan gambar 4.3, pH 4 merupakan pH optimum ekstrak kasar enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu dengan aktivitas enzim sebesar 0,049 U/mL. pH optimum merupakan kondisi suatu enzim membentuk struktur dengan tepat dan bekerja mengikat substrat dengan baik. Perubahan nilai pH dapat memengaruhi nilai aktivitas enzim dan menyebabkan perubahan struktur dan muatan pada asam amino.

Enzim tersusun dari asam amino dan gugus fungsional. Asam amino dapat bersifat asam ataupun basa. Pada suasana asam gugus karboksil dari asam amino cenderung mengikat ion H⁺. Keadaan tersebut membuat gugus karboksil bermuatan netral dan gugus amino bermuatan positif. Sedangkan pada suasana basa, gugus amino cenderung melepaskan H⁺ sehingga asam amino bermuatan netral dan gugus karboksil bermuatan negatif. Asam amino bersifat asam cenderung bermuatan polar dan mudah untuk menangkap elektron. Perubahan ionisasi pada asam amino

memengaruhi bentuk suatu molekul enzim. Hal tersebut dapat memengaruhi efek katalis pada enzim. Asam amino yang bersifat asam atau basa dapat memengaruhi nilai suatu pH (Husna, 2017: 144).

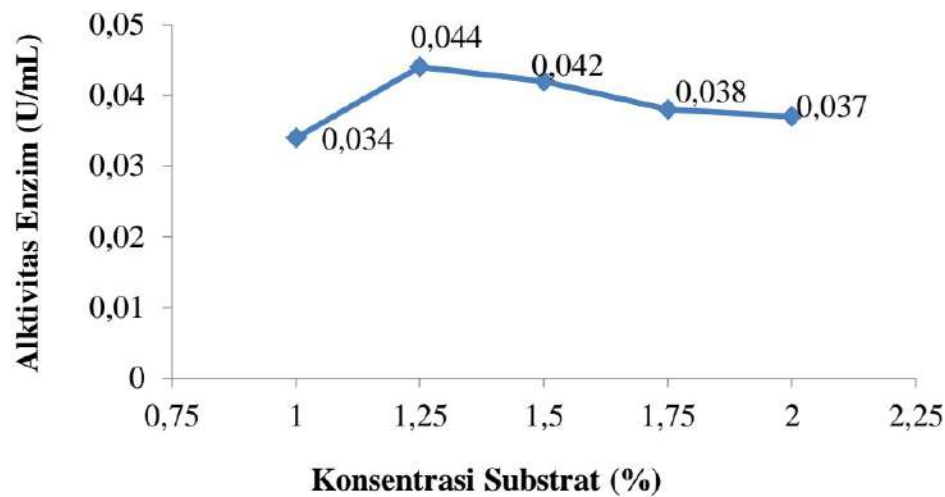
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu memiliki aktivitas yang tinggi pada pH asam. Pada kondisi pH optimum, sisi aktif enzim mengikat substrat dengan cepat sehingga nilai aktivitas pada enzim mengalami peningkatan (Irawati, 2016: 48). Aktivitas enzim amilase mengalami penurunan seiring meningkatnya nilai pH. Hal tersebut karena perubahan nilai pH dapat mengubah struktur tiga dimensi pada enzim sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat dan mengganggu laju katalis pada enzim (Nurkhotimah, 2017: 470).

Enzim amilase dari berbagai macam mikroorganisme memiliki pH optimum yang berbeda-beda. Kresnawaty, dkk (2019: 142) menyatakan ekstrak kasar enzim amilase yang diperoleh dari larva *black soldier* bekerja optimum pada pH 4 dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0,034 U/mL. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa enzim amilase dari *Asperigillus oryzae* FNCC 6004 optimum pada pH 4,5 dengan aktivitas enzim amilase sebesar 5,67 U/mL (Jayanti, dkk., 2013: 82).

3.3 Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum Enzim Amilase

Konsentrasi substrat merupakan salah satu faktor yang memengaruhi aktivitas enzim. Berdasarkan pada Tabel 4.3, nilai aktivitas enzim yang diperoleh berbeda-beda terhadap 5 variasi konsentrasi substrat. Aktivitas tertinggi ekstrak kasar enzim amilase terdapat pada konsentrasi substrat 1,25% dengan nilai rata-rata aktivitas enzim sebesar 0,044 U/mL. Kemudian nilai aktivitas terendah terdapat pada konsentrasi substrat 1,00 % dengan rata-rata nilai aktivitas sebesar

0,034 U/mL. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim amilase dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 4.4 Kurva Pengaruh konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Berdasarkan gambar 4.4, enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu memiliki konsentrasi optimum sebesar 1,25 % dengan aktivitas enzim sebesar 0,044 U/mL. Konsentrasi substrat optimum merupakan keadaan optimal enzim dalam membentuk kompleks substrat enzim sehingga menghasilkan aktivitas yang tinggi. Menurut Istia'nah, dkk., (2020: 15), konsentrasi substrat dapat meningkatkan aktivitas enzim. Semakin besar konsentrasi substrat, maka semakin banyak substrat yang masuk ke dalam sisi aktif enzim sehingga glukosa yang dihasilkan juga semakin tinggi.

Hasil penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi substrat di atas 1,25 % mengalami penurunan aktivitas. Nilai aktivitas enzim semakin mengalami penurunan dari konsentrasi 1,50 %; 1,75 %; dan 2,00%. Hal ini karena pada konsentrasi 1,25 % enzim telah membentuk kompleks substrat enzim dengan sempurna (Putri, 2016: 61). Menurut Putri (2016: 61), glukosa yang terlalu tinggi akan menyebabkan inhibisi

pada enzim sehingga mengalami perubahan pada sisi aktif enzim. Hal tersebut membuat substrat tidak berikatan dengan enzim dan tidak dapat membentuk kompleks substrat enzim. Penurunan aktivitas enzim juga terjadi karena inhibitor dari glukosa yang menyebabkan reaksi kimia berjalan lambat dan menghambat kerja enzim amilase (Roukas, 1996). Istia'nah (2020:14) melaporkan konsentrasi optimum enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* yaitu 1,50 % dengan aktivitas enzim sebesar 0,548 U/mL. Penelitian lainnya menyatakan bahwa konsentrasi substrat optimum enzim amilase dari bakteri *Arthrobacter arilaitensis* yaitu 1 % dengan aktivitas enzim sebesar 2,7 U/mL (Purnawan, dkk., 2015: 222).

Enzim dapat diproduksi dari berbagai macam mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan jamur. Aktivitas enzim amilase dari berbagai mikroba memiliki nilai yang berbeda. Hal ini dikarenakan penyusun asam amino dari mikroba yang berbeda. Enzim amilase yang diperoleh dari bakteri memiliki unsur penyusun asam amino yaitu Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, dan Val (Calik, 2000).

4. Aktivitas Enzim Amilase pada Substrat Alami Kulit Singkong

Enzim amilase memiliki kemampuan dalam menghidrolisis substrat yang mengandung amilum. Kulit singkong mengandung karbohidrat, selulosa, hemiselulosa, lignin, protein dan abu (Pooja, 2015: 6). Ekstraksi kulit singkong bertujuan untuk mendapatkan pati dari kulit singkong. Ekstraksi juga dilakukan untuk menghilangkan komponen-komponen senyawa pengganggu lainnya. Pati dalam kulit singkong ditandai dengan hasil ekstraksi yang berwarna putih.

Hidrolisis pati terhadap substrat amilum menggunakan tiga enzim yaitu enzim α -amilase, β -amilase, dan glukoamilase. Enzim α -amilase adalah enzim yang bekerja dengan menghidrolisis α -(1-4) ikatan secara acak dan menghasilkan

malto-oligosakarida. β -amilase adalah enzim yang membelah molekul β -maltosa berturut-turut dari ujung amilosa yang tidak mereduksi atau dari luar cabang amilopektin dan tidak melewati ikatan α -(1-6). Amiloglukosidase (glukoamilase) adalah enzim yang melepas molekul glukosa tunggal dari ujung non pereduksi α -(1-4) polisakarida. Enzim ini dapat menghidrolisis α -(1-6) titik percabangan dan dapat mengubah pati secara keseluruhan menjadi glukosa (Tester, dkk., 2004: 192).

Kandungan pati yang cukup tinggi dari kulit singkong digunakan sebagai sumber nutrisi bagi mikroorganisme. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh rata-rata aktivitas enzim amilase pada substrat alami kulit singkong adalah 0,077 U/mL. Asadullah (2014) menyatakan bahwa produksi enzim amilase menggunakan onggok yang bersal dari kulit singkong menghasilkan aktivitas enzim amilase sebesar $4,1136 \times 10^{-3}$ U/mL.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, itu dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas optimum enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu dengan substrat amilum pada suhu 70 °C adalah 0,116 U/mL, pH 4 adalah 0,049 U/mL, dan konsentrasi substrat 1,25 % adalah 0,044 U/mL
2. Aktivitas optimum enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva dengan menggunakan substrat kulit singkong adalah 0,077 U/mL.

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya pengujian lebih lanjut aktivitas enzim amilase menggunakan berbagai jenis substrat alami perlu dilakukan. Pengaplikasian enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu dalam produksi bioetanol juga perlu diuji.



DAFTAR PUSTAKA

Al-Qur'an nul Karim

Abidin, dkk. "Analisis Kelayakan dan Perspektif Pengembangan Pengolahan Sagu di Sulawesi Tenggara". *Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian* 22, no.3 (2019): h. 307-319.

Afrisham, dkk. "Characterization of a thermostable, CaCl_2 -activated and raw-starch hydrolyzing alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* AT70: Production under solid state fermentation by utilizing agricultural Wastes". *Molecular Catalysis B: Enzymatic* (2016): h. 1-35.

Agustina, Ni Putu Rahma. "Konversi Enzimatis α -Amilase dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148 yang dimbolisasi dengan kitosan untuk produksi Bioetanol. *Skripsi*. Bandar Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, 2018.

Ariandi dan Sitti Rachmy. "Perbandingan Morfologi dan Kadar Protein Ulat *Rhynchophorus ferrugineus* pada Pohon Sagu dan Pohon Aren". *Cokroaminoto Journal of Biological Science* 1, no. 1 (2019): h. 6-11.

Ariandi. "Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-amylase) dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati menjadi Glukosa". *Dinamika* 7, no. 1 (2016): h. 78-82.

Ariani, dkk. "Tepung ulat sagu (*Rhynchophorus ferrugineus*) imunomodulator Nitric Oxide (NO) sirkulasi mencit terapi antimalaria standar". *Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)* 6, no. 2 (2018): h. 131-138.

Arifwan, dkk. "Pembuatan Bioetanol dari Singkong Karet (*Manihot Glaziovii* Muell) dengan Hidrolisis Enzimatis dan difementasi menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*". *Jurnal Atomik* 1, no. 1 (2016); h. 10-12.

Aripin, dkk. "Studi Pembuatan Bahan Alternatif Plastik Biodegradable dari Pati Ubi Jalar dengan Plasticizer Gliserol dengan Metode Melt Intercalation". *Teknik Mesin* 6, (2017): h. 18-23.

Aryati, dkk. "Amylase production potentials of bacterial isolates obtained from the gut of *Oryctes rhinoceros* larvae". *IOP Publishing* (2016): h. 1-6.

Asadullah, M. "Isolasi Bakteri Amilolitik dari Bekatul dan Uji Kemampuan untuk Produksi Enzim Amilase kasar pada Berbagai Jenis Media Produksi". *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2014.

Assegaf, Syathira. "Peningkatan kestabilan Enzim NGK α -amilas dari *Rhizopus oligosporus* dengan penambahan polietilen glikol GLIKOL (PEG) 600". *Skripsi*. Bandar Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, 2017.

Azizah, Nurul. "Pemurnian enzim selulase dari isolat khamir jenis *Candida utilis* menggunakan fraksinasi amonium sulfat". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin, 2017.

- Bustaman, Sjahrul. "Potensi Ulat Sagu dan Prospek pemanfaatanya". *Litbang Pertanian* 27, no. 2 (2008): h. 50-54.
- Bu'ulolo, Sukaman. "Uji Pengaruh Perendaman Terhadap Kadar Kafein pada bubuk kopi hitam yang beredar dipasaran dikota medan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Medan: Fakultas Farmasi dan Kesehatan Insititut Kesehatan Helvetia, 2019.
- Calik, pinar dan Tuncer H. Ozdamar. "Carbon Sources Affect Metabolic Capacities of Bacillus Species for the Production of Industrial Enzymes: Theoretical Analyses for Serine and Neutral Proteases and α -amylase". *Elsevier* 8 (2001): h. 61-8.
- Choirunnisa, dkk. "Identifikasi dan Uji Kemampuan Hidrolisis pada Bakteri Amilolitik dan Proteolitik yang Diisolasi dari Wadi, Makanan Khas Kalimantan Tengah. *Bionature* 18, no.2 (2017): h. 99-109.
- Deb, dkk. "Production and Partical Charaterization of Extracellular Amylase Enzyme From Bacillus Amyloliquefaciens P-001". *Spingplus* 2, no. 154 (2013): h. 1-12.
- Dewi, dkk. "Produksi Glukosa Cair Fungsional dengan Ekstrak Jahe dari Hidrolisis Pati Kulit Singkong". *Kejuangan* (2019): h. 1-7.
- Dojnov, dkk. "Purification and properties of midgut α -amylase isolated from *Morimus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) larvae". *Comparative Biochemistry and Physiology* (2008): h. 153-160.
- El-latif Ashraf Oukasha Abd. "Partial characterization of the digestive proteases and α -amylase of the larvae of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*". *Arthropods* 9, no. 1 (2020): h. 7-14.
- Faijah. "Perbandingan Tepung Tapioka dan Sagu pada Pembuatan Briket Kulit Buah Nipah (*Nypafruticans*)". *Pendidikan Teknologi Pertanian* 6, no. 2(2020): h. 201-210.
- Fitriani, dkk. "Penentuan Aktivitas Amilase Kasar Termofil *Bacillus subtilis* Isolat Kawah Gunung Darajat Garut, Jawa Barat." *Bionatural* 15, no. 2 (2013): h. 107-113.
- Fitriyah, dkk. "Analisis Kandungan Gizi Beras dari Beberapa Galur Padi Transgenik Pac Nagdong/Ir36". *Ilmu Kesehatan* 1, no. 2 (2020): h. 154-160.
- Fuadi, Ahmad M. dan Kun Harismah. "Perbandingan Efektifitas Pembuatan Glukosa dari Kertas Bekas Secara Hidrolisis Asam dan Enzim". *Teknologi Bahan Alam* 1, no. 1 (2017): h. 6-11.
- Gopinath, dkk. "Biotechnological Procces ij Microbial Amylase". *BioMed Research International*, (2017): h. 1-9.
- Guangorong, dkk. "Purification and characterization of a protease from Termophilic *bacillus* strain HS06". *African Journal of Biotechnology* 5, no. 24 (2006): h. 2433-2438.
- Gumelar dan Dicky Eka Fariyanto. "Pengaruh Waktu Perkecambahan Biji Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus* L.) Terhadap Produksi Enzim α -amilase". *Penelitian* 4, no. 1 (2020): h. 68-77.

- Gunasekhar V. dan Arpitha Somayaji. "Effect of Endophytic Bacteria *Burkholderia cepacia* on Growth, Cocoon Characters and Enzyme Activity of Silkworm, *Bombyx mori* L.". *Sajrm* 5, no 4 (2019): h. 1-8.
- Hamdani, Ulfa Zakiah. "Komparasi Karakter Gelatinasi Pati Sagu yang Berasal dari Kab. Luwu Dan Kab. Luwu Utara". *Perbal* 7, no.1 (2019): h. 39-45.
- Hasan, dkk. "Optimization of some fermentation conditions for the production of extracellular amylases by using *Chryseobacterium* and *Bacillus* isolates from organic kitchen wastes". *Genetic Engineering and Biotechnology* (2017): h. 1-10.
- Hasniar. "Skreening Bakteri Asam Laktat (BAL) Bersifat Amilolitik dari Gastrointestinal Lobster Air Tawar (*Cherax Quadricarinatus*)". *Galung Tropika* 5, no 3 (2016): h. 210 – 218.
- Hastuty, Sri. "Pengolahan Ulat Sagu (*Rhynchophorus ferrugineus*) di Kelurahan Kecamatan Walenrang Utara Kabupaten Luwu". *Perspektif* 1, no. 1 (2016): h. 12-19.
- Husna, dkk. "Pengaruh pH Terhadap Degradasi Pewarna Direct Blue menggunakan Jamur Pelapuk Kayu (*Pleurotus flabellatus*)". *Riset Kimia* 2, no. 2 (2017): h. 140-146.
- Idiawati, dkk. "Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Sagu". *Natur Indonesia* 16, no. 1 (2014): h. 1-9.
- Irawati, Rosyida. "Karakterisasi pH, Suhu, dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang diproduksi oleh *Bacillus circulans*". *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, 2016.
- Istia'nah, dkk. "Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat". *Riset Biologi dan Aplikasinya* 2, no. 1 (2020): h. 11-17.
- Jayanti, dkk. "Isolasi, Karakterisasi, dan amobilisasi α -amilase dari *Aspergillus oryzae* FNCC 6004". *Chem Info* 1, no. 1 (2013): h. 76-84.
- Kartikasari, dkk. "Karakterisasi Sifat Kimia, Profil Amilografi (RVA) dan Morfologi Granula (SEM) Pati Singkong Termodifikasi Secara Biologi". *Agroteknologi* 10, no. 1 (2016): h.12-24.
- Kiat, L. J."Preparation and Characterization Of Carboxymethyl Sago Waste and Its Hydrogel". *Thesis*. Universitas Putra Malaysia, 2006.
- Kiti, dkk. "Studi Kualitatif Aktivitas Amilolitik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Pangan Tradisional Aceh Pliek U". *Health and Contemporary Technology* 1, no. 1 (2020): h. 5-9.
- Köhler, dkk. "Nutrient composition of the Indonesian sago grub (*Rhynchophorus bilineatus*)". *Tropical Insect Science*, (2019): h. 1-10.
- Kresnawaty, dkk. "Aktivitas amilase bakteri amilolitik asal larva black soldier fly (*Hermetia illucens*)". *Menara Perkebunan* 87, no. 2 (2019): h. 140-146.

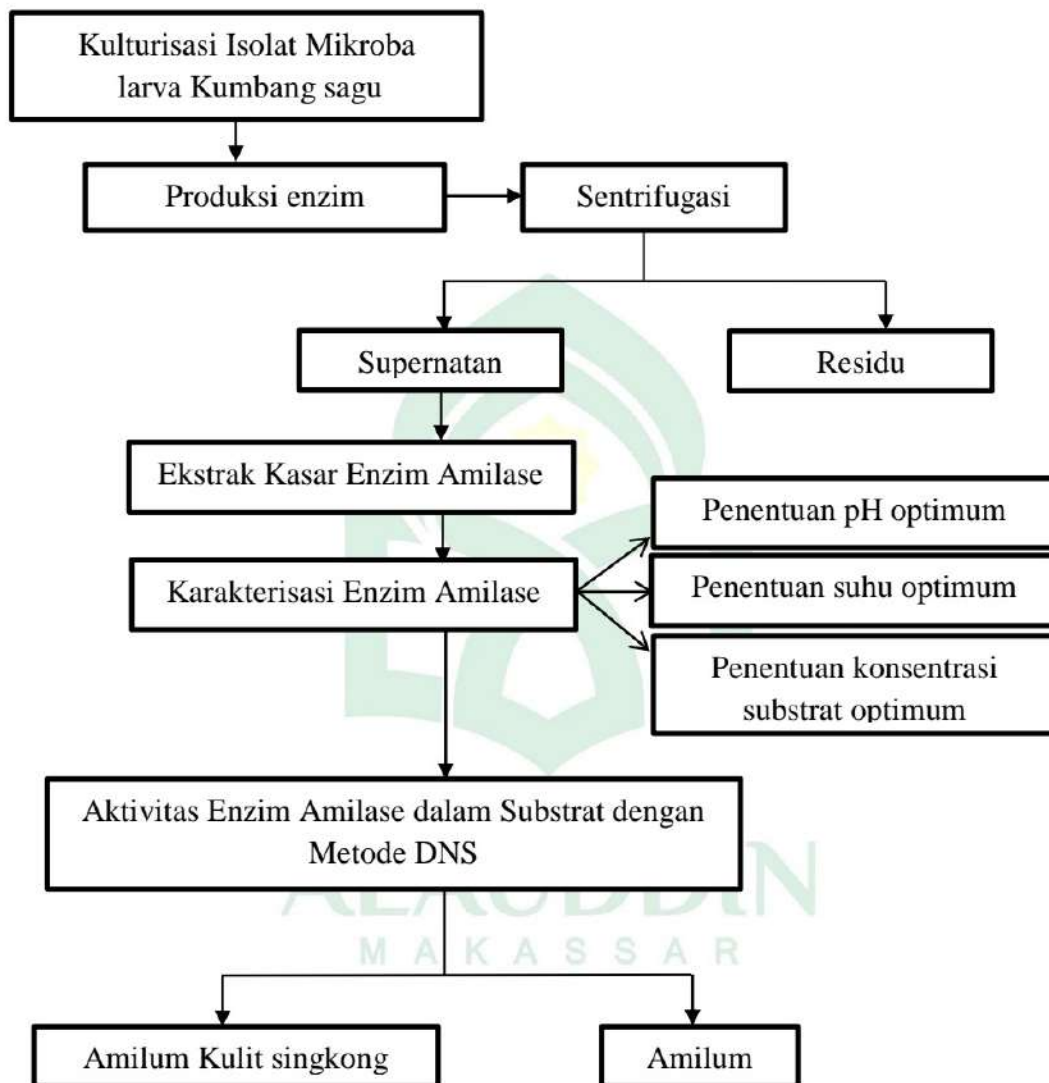
- Liang, dkk. "Isolation and characterization of enzyme producing bacteria of the silkworm larval gut in bioregenerative life support system". *Acta Astronautica* (2015): h. 1-23
- Luo, dkk. "Colorimetric Determination of the Activity of Strach –Debranching Enzyme via Modified Tollen's Reaction". *Nanomaterials* 9, no. 1291 (2019): h. 1-11.
- Makapagal, Dewa Putu dan Nelsye Lumanauw. "BE Jubel dan Be Ancruk Kuliner Ekstrim Langka di Bali". *Journey* 1, no. 1 (2019): h. 42-61.
- Maulani, Pengaruh pH pH Pemanfaatan Limbah Padat Tepung Tapioka (Onggok) Menjadi Gula Cair Secara Hidrolisis Enzimatis". *Seminar* (2018): h. 155-158.
- Mojsov, Dr Kiro "Microbial α -amylase and Their Industrial Application". *Ijmie* 2, no. 10 (2012): h. 583-609.
- Muin, dkk. "Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol dalam Proses Fermentasi Nasi Aking Sebagai Substrat Organik". *Teknik Kimia* 21, no. 21 (2015): h. 59-69.
- Muliani, Isolasi dan Identifikasi Mikroba Simbion Penghasil Amilase dari Larva Kmbang Sagu" *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi Unversitas Islam Negeri Alauddin Makassar, 2020.
- Neldawati, dkk. "Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat". *Pillar Of Physics*, no. 2, 76-83.
- Nisah, Khairun. "Study Pengaruh Kandungan Amilosa dan Amilopektin Umbi-umbian Terhadap Karakteristik Fisik Plastik Biodegradable dengan Plastizecer Gliserol". *Biotik* 5, no. 2 (2017): h. 106-113.
- Nurhaedah. "Manfaat Sagu (Metroxylon spp.) Bagi Petani Rakyat di Kabupaten Konawe Selatan". *Info Teknis Eboni* 11, no. 2 (2014): h. 95-102.
- Nurkhotimah. "Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi". *Prodi Biologi* 6, no. 8 (2017): h. 465-471.
- Nursamsiar, dkk. "Penentuan Amilosa dari Umbi Talas Safira (*Colocasia esculenta* Schoot var. *antiquorum*) Menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Vis". *Farmasi Galenika* 3, no. 2 (2016): h. 67-72.
- Pertiwi, Nada. "Karakterisasi Enzim Selulase yang dihasilkan dari *Khamir Candida Utilis*" *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Isalm Negeri Alauddin Makassar, 2017.
- Phieter, dkk. "Karakterisasi Enzim Pemecah Pati dari Malt Serelia". *Sains dan Teknologi* 1, no. 1 (2020): h. 38-48.
- Pooja N.S dan G Padmaja. "Enhacing the Enzymatic Saccharifacation of Agricultural and Processing Residues of Cassava through Pretreatment Techniques". *Waste Biomass Valor* (2015): h. 1-15.
- Pramesti, dkk. "Analisis Rasio Kadar Amilosa/Amilopektin dalam Amilum dari Beberapa Jenis Umbi". *Indo. J. Chem* 4, no. 1 (2015): h. 26-30.

- Purnawa, dkk. "Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*)". *Biologi Indonesia* 11, no. 2 (2015): h. 215-224.
- Puspitasari, dkk. "Studi Kinetika dari Enzim α -amilase pada Proses Penghilangan Kanji Kain Kapas". *Arena Tekstil* 34, no. 1 (2020): h. 1-6.
- Putra, dkk. "Selulase dan amilase dari Daun Lontara (*Borassus flabelliformis*) yang telah lapuk serta uji inhibisi dengan minyak sereh dan cengkeh". *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)* 7, no. 2 (2019): h. 140-148.
- Putri, dkk. "Pemanfaatan Pohon Sagu (*Metroxylon* sp) dan Kualitas Pati Sagu Dari Desa Salimuran Kecamatan Kausan Hilir Kabupaten Tanah Bumbu Kalimantan Selatan". *Sylva Scientiae* 2, no. 6 (2019): h. 1082- 1093.
- Putri, Syarafina. "Karakterisasi Enzim Selulase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat". *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Malang, 2016.
- Ratna, P Ayu dan Fitri Yulistiani. "Pembuatan Gula Cair dari Pati Sinkong dengan Menggunakan Hidrolisis Enzimatis". *Fluida Volume* 11, no. 2 (2015): h. 9-14.
- Ratri, dkk. "Studi Filogeni dan Uji Potensi Bioremediasi serta Enzim Termotabil Ekstraseluler Isolat *Geobacillus* sp. dari Sumber Air Panas Gedong Songo". *Kimia Sains dan Aplikasi* 12, no. 2 (2009): h. 31-39.
- Riyanto, dkk. "Pengaruh Penambahan Sorbitol Terhadap Karakteristik Fisokimia Edible Film Berbahan Dasar Pati Gandum". *Teknologi Pangan dan Gizi* 16, no. 1 (2017): h. 14-20.
- Samsuri, dkk. "Pemanfaatan Selulosa Bagas untuk Produksi Ethanol Melalui Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase". *Makara Teknologi* 11, no. 1 (2007): h. 17-24.
- Santoso, Arif Dwi. "Potensi dan Kendala Pengembangan Sagu Sebagai Bahan Pakan, Pangan, Energi dan Kelestarian Lingkungan di Indonesia". *Jrl* 10, no. 2 (2017): h. 51-57.
- Sarastiti, dkk. "Identifikasi Molekuler Spesies Bakteri Kandidat Probiotik yang diisolasi dari Usus Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) koleksi dari Kabupaten Subang, Jawa Barat". *Pasir Laut* 4, no 1 (2020): h. 9-15.
- Saridewi, dkk. "Karakterisasi biokimia bakteri endofit akar terung sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan pengendali penyakit layu bakteri in planta". *Proteksi Tanaman Tropis* 1, no. 1 (2020): h. 1-8.
- Saropah, dkk. "Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul". *Alchemy* 2, no. 1 (2012): h. 34-45.
- Senewe, dkk. "Komunitas Hymenoptera Parasitoid pada Areal Hutan Sagu (*Metroxylon* pp.) di Maluku". *Buletin Palma* 18, no. 1 (2017): h. 9-21.
- Sentosa, dkk. "Pelaksanaan Fungsi Teknis Badan Pangan dan Pertanian Dunia (Food and Agriculture Organization) dalam Pemberdayaan Sagu Melalui Diversifikasi pangan di Kabupaten Konawe". *Pir* 4, no. 1 (2019): h. 1-15.
- Setyati, Wilis Ari dan Subagiyo. "Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler Proteolitik, amilolitik, lipolitik, dan selulolitik) yang Berasal

- dari Sedimen Kawasan Mangrove”. *Ilmu Kehutanan* 17, no. 3 (2012): h. 164-168.
- Simair, dkk. “Production and Partial Characterization of α -Amylase Enzyme from bacillus sp. BCC 01.-50 and Potential Applications”. *Biomed Research International* (2017): h. 1-10.
- Singh, dkk. “Biotechnological applications of industrially important amylase enzyme”. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2, no.1 (2011): h. 486-496.
- Soeaka, dkk. “Optimasi Enzim α -Amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* O1 yang Diinduksi Substrat Dedak Padi dan Karboksimetilselulosa”. *Biologi Indonesia* 11, no. 2 (2015): h. 259-266.
- Supriyatna, dkk. “Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan protease dari Larva *Hermetia illucens* yang diberi pakan jerami padi”. *Edisi Juli* 9, no. 2 (2015): h. 18-32.
- Susmiati, Yuana. “Prospek Produksi Bioetanol dari Limbah Pertanian dan Sampah Organik”. *Teknologi dan Manajemen Agroindustri* 7, no. 2 (2018): h. 67-80.
- Sutikno, dkk. “Pengaruh Konsentrasi Enzim Selulase, α -Amilase dan Glukoamilase Terhadap Kadar gula Reduksi dari Onggok”. *Teknologi Industri & Hasil Pertanian* 21, no. 1 (2016): h. 1-12.
- Tarigan, dkk. “Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik *Bacillus* sp.”. (2020): h. 736-747.
- Tester, dkk. “Starch structure and Digestibility Enzyme-Substrate Relationship”. *World’s Poultry Science* 6, (2004): h. 186-195.
- Triyati, Etty. “Spektrofotometer Ultra-Violet dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya dalam Oseanologi”. *Oseana* 10, no. 1 (1985): h. 39-47.
- Tur-Ridha, Noer Khalifah. “Potensi hidrogel dari Pati Kulit Singkong (*Manihot esculenta* cranz) Sebagai Absorben Zat Warna Metanil Kuning”. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, 2019.
- Tzakiah, dkk. “Karakterisasi Enzim amilase dari Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)”. *Al-Kimiya* 4, no. 1 (2017): h. 17-22.
- Vita. “Etnobotani Sagu (*Metroxylon* Sagu) Di Lahan Basah Warisan Budaya Masa Sriwijaya”. *Kalpataru* 26, no.2 (2017): h. 107-122.
- Yusmarini, dkk. “Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu”. *Agritech* 37, no. 1 (2017): h. 95-100.
- Zubaidah, Pada Budidaya Ikan dkk. “Screening Bakteri Selulolitik dan Amilolitik Pada Rumen Sapi Sebagai Kandidat Probiotik Secara In Vitro”. *Jurnal Riset Akuakultur* 14, no. 4 (2019): h. 261-271.
- Zuraidah, dkk. “Karakteristik Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik dari Kawasan Wisata Ie Seuum (Air Panas)”. *Ilmu Alam dan Lingkungan* 11, no. 2 (2020): h. 40-47.

LAMPIRAN

LAMPIRAN I. SKEMA PENELITIAN



LAMPIRAN 2. PROSEDUR PENELITIAN

1. Pembuatan Media

a. Pembuatan Medium Inokulum

1 g amilum; 2,5 g *nutrient broth*; 0,02 g MgSO_4 ; 0,7 g KNO_3 ; 0,05 g KH_2PO_4 ; dan 0,2 g ekstrak ragi

— Dilarutkan dengan 100 mL akuades

— Diesterilisasi menggunakan autoklaf pada $T = 121^\circ\text{C}$
($P = 1 \text{ atm}$) selama 15 menit

Hasil

b. Pembuatan Media Produksi

5 g amilum; 12,5 g *nutrient broth*; 0,1 g MgSO_4 ; 3,5 g; KNO_3 ; 0,25 g KH_2PO_4 ; dan 1 g ekstrak ragi

— Dilarutkan dalam 500 mL akuades

— Diesterilisasi menggunakan autoklaf pada $T = 121^\circ\text{C}$
($P = 1 \text{ atm}$) selama 15 menit

Hasil

2. Produksi Enzim Amilase Isolat Larva Kumbang Sagu

a. Penyiapan Inokulum

Isola Bakteri R_2M larva kumbang

— Diiambil isolat sebanyak 3 ose

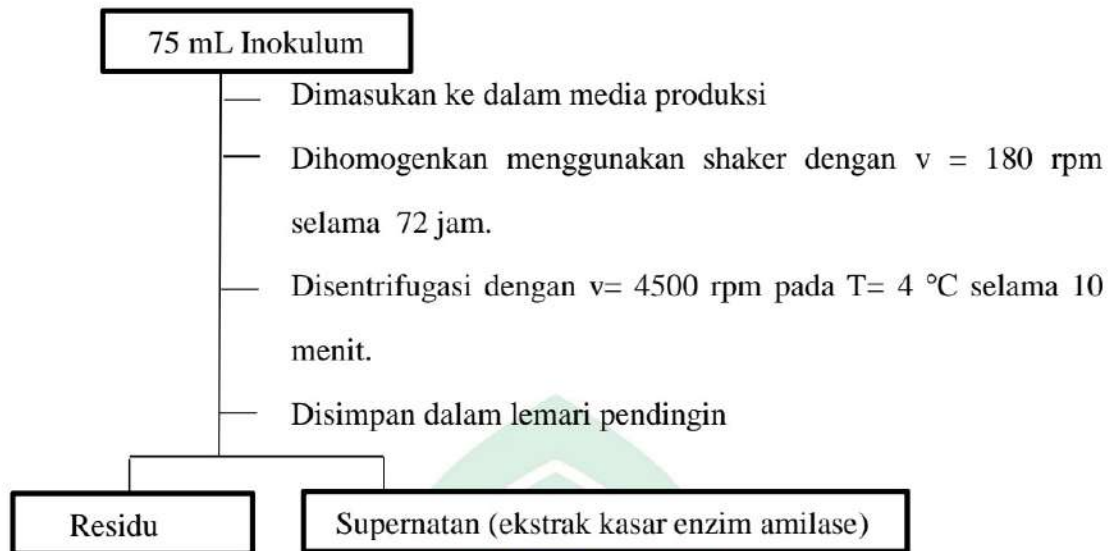
— Dipindahkan ke dalam media inokulum

— Dihomogenkan

— Diinkubasi dengan $v = 180 \text{ rpm}$ pada $T = 32^\circ\text{C}$ selama 24 jam

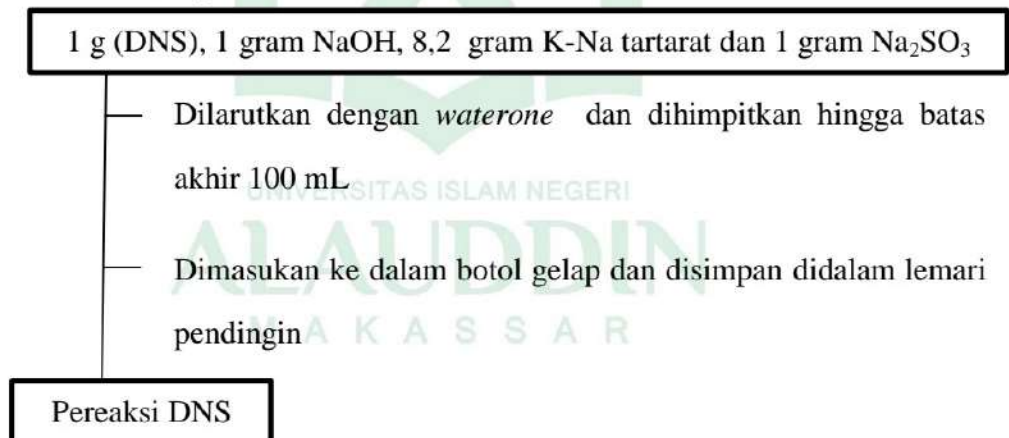
Hasil

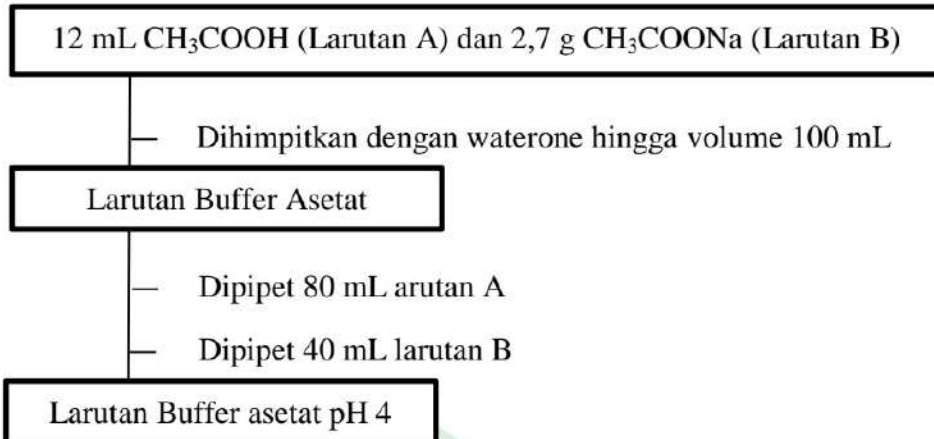
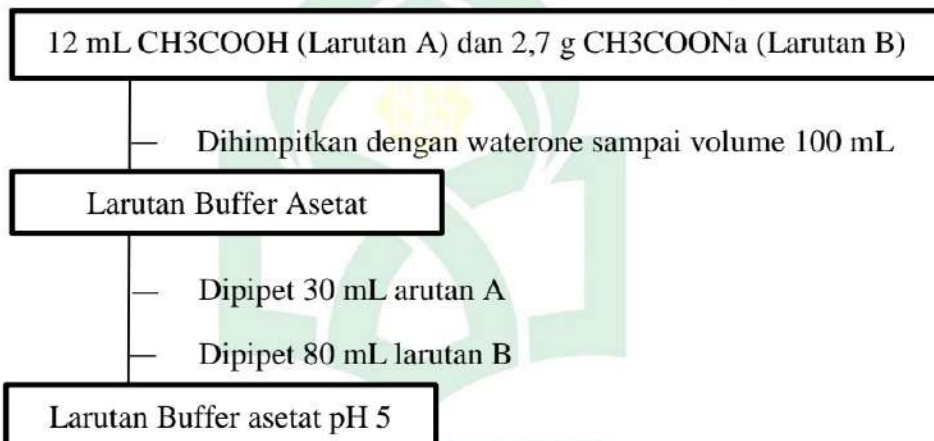
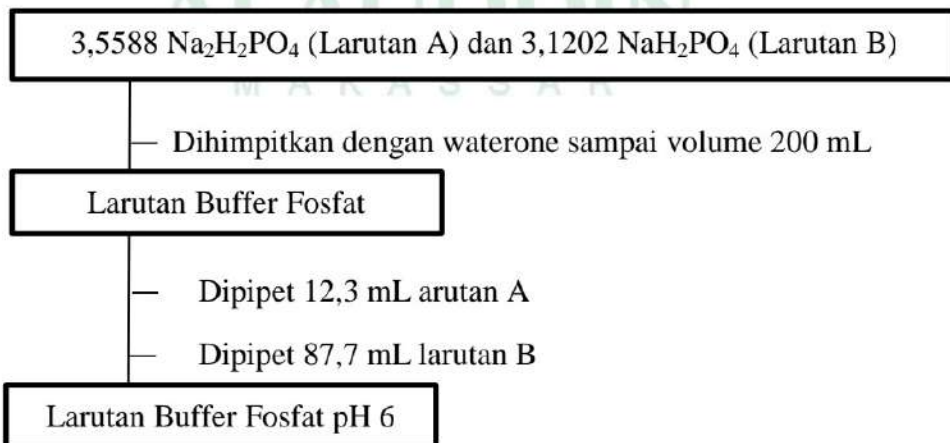
b. Produksi Ekstrak Kasar Enzim Amilase

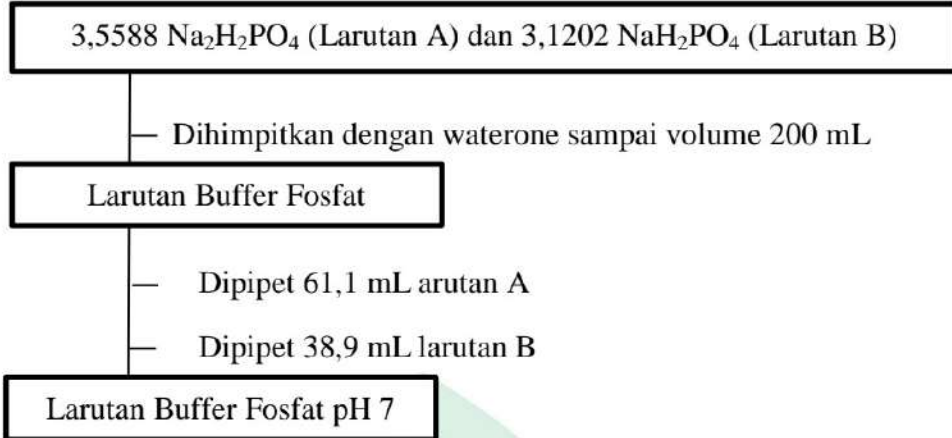
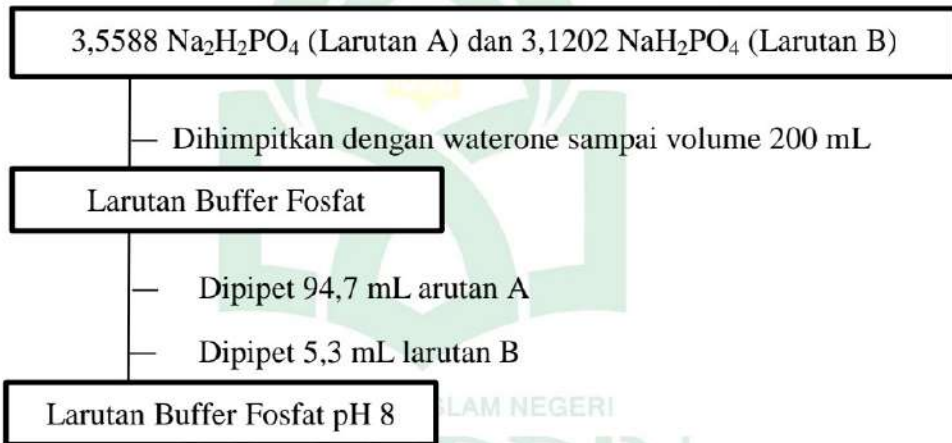


3. Persiapan Reagen dan Standar Glukosa

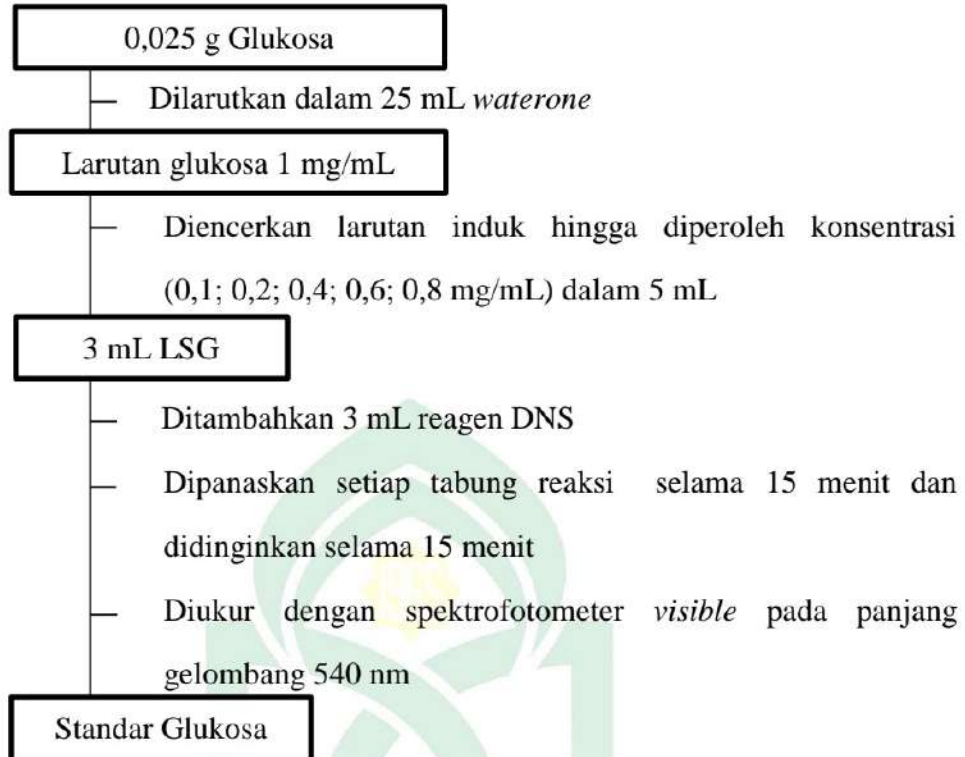
a. Pembuatan pereaksi DNS



b. Pembuatan Larutan Bufer Asetat pH 4**c. Pembuatan Larutan Buffer Asetat pH 5****d. Larutan Buffer Fosfat pH 6**

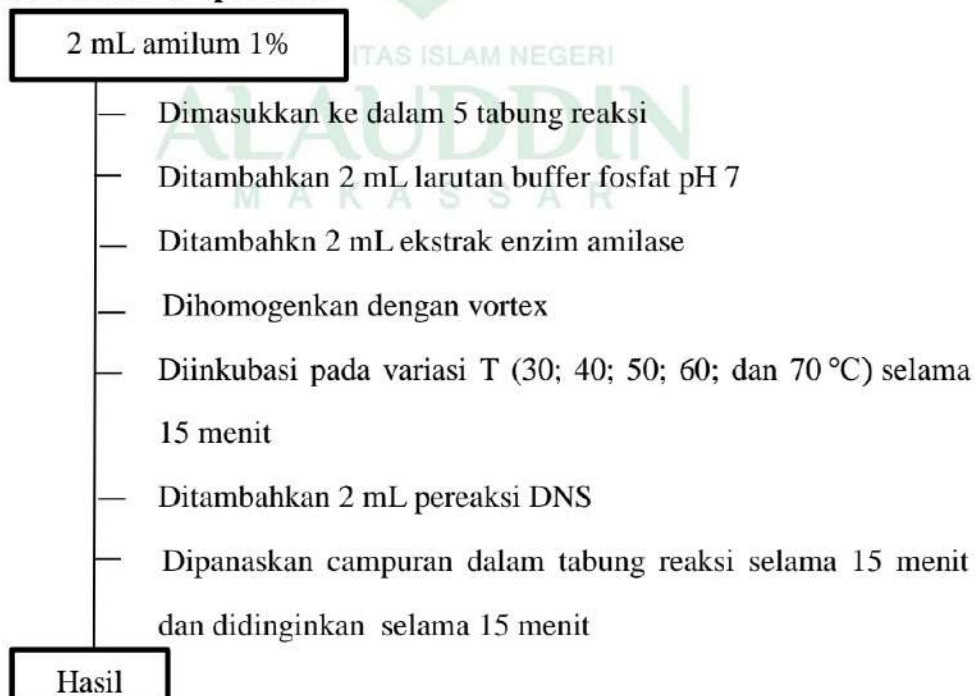
e. Larutan Buffer Fosfat pH 7**f. Larutan Buffer Fosfat pH 8**

g. Pembuatan Larutan Standar glukosa



4. Karakterisasi Enzim Amilase

a. Penentuan suhu optimum



b. Penentuan pH optimum

2 mL amilum 1%

- Dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi
- Ditambahkan 2 mL buffer (buffer asetat pH 4,5 dan buffer fosfat pH 6,7,8) ke dalam tabung
- Ditambahkan 2 mL ekstrak kasar enzim amilase
- Diinkubasi pada suhu 37 °C dalam waktu 15 menit
- Ditambahkan 2 mL pereaksi DNS
- Dipanaskan campuran selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit
- Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 540 nm

Hasil

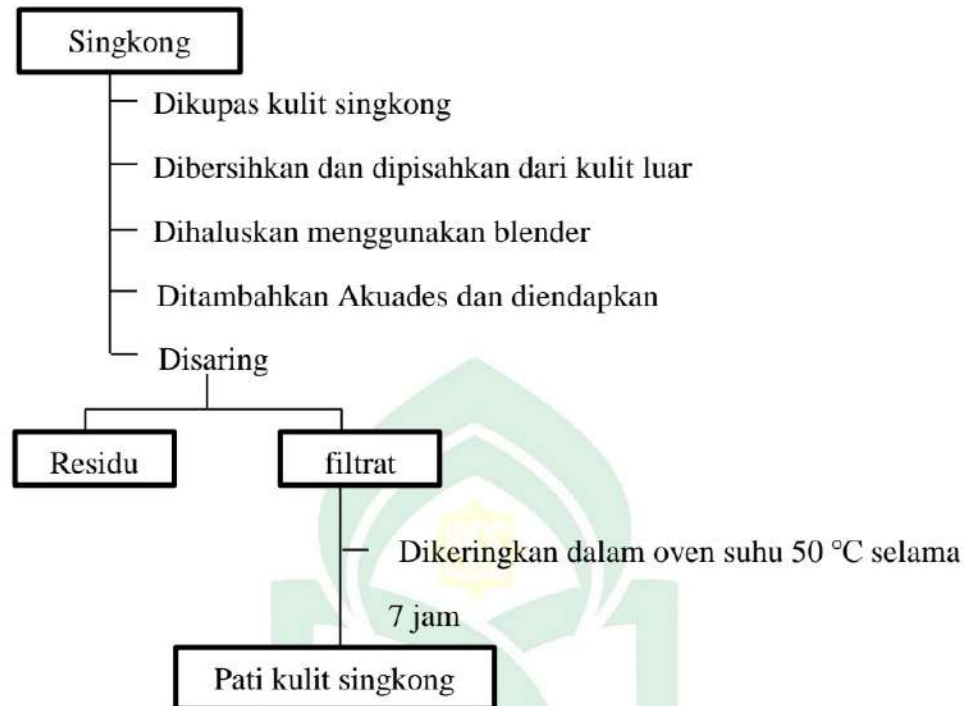
c. Penentuan Konsentrasi Optimum

2 mL amilum 1 % dengan Variasi konsentrasi
1,0 %; 1,25 %; 1,50 %; 1,75 %; dan 2,0 %

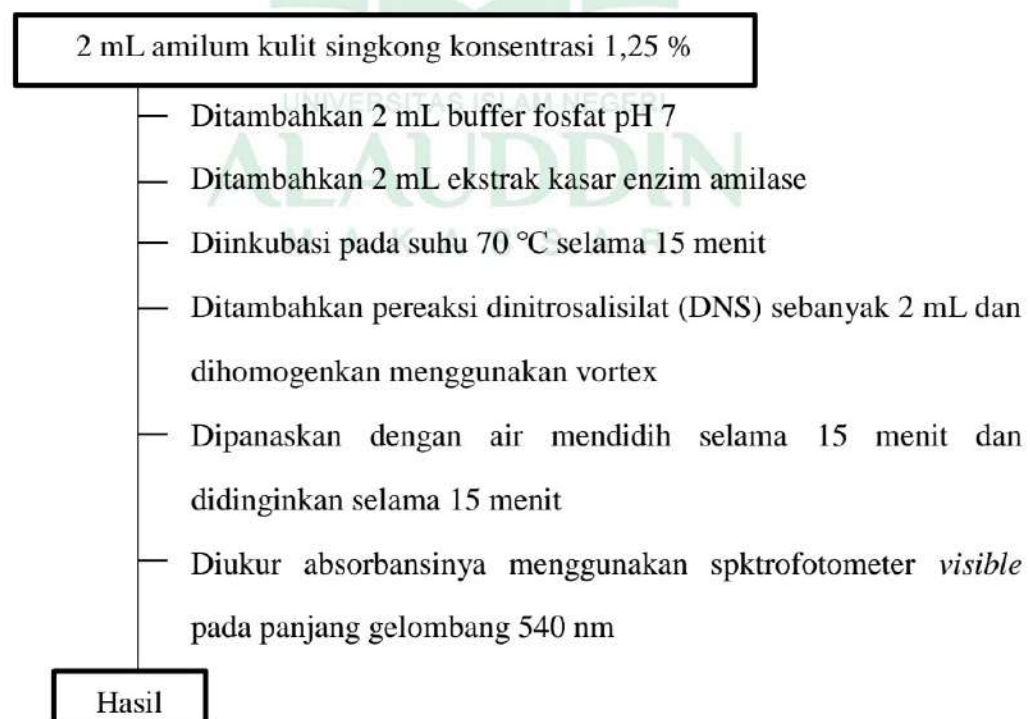
- Ditambahkan 2 mL substrat amilum dengan konsentrasi 1,00%, 1,25%, 1,50%, 1,75% dan 2,00 %
- Ditambahkan 2 mL buffer fosfat pH 7
- Dimasukkan 2 mL ekstrak kasar enzim amilase
- Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit
- Ditambahkan 2 mL pereaksi DNS
- Dipanaskan campuran selama 15 menit dan didinginkan selama 15 menit
- Dihitung aktivitas enzim amilase dengan metode DNS.

Hasil

5. Ekstraksi Pati Kulit Singkong



6. Aktivitas Enzim Amilase pada Substrat Alami Pati Kulit Singkong



LAMPIRAN 3: PEMBUATAN KURVA STANDAR GLUKOSA

3.1. Pembuatan Larutan Baku standar Glukosa

Cara pembuatan larutan baku standar glukosa 1 mg/mL sebanyak 25 mL adalah:

$$\frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} = \frac{0,025 \text{ g}}{25 \text{ mL}}$$

Glukosa pa sebanyak 0,025 g dilarutkan dalam *waterone* sebanyak 25 mL lalu dihipitkan dalam labu takar 25 mL. Kemudian dibuat larutan standar glukosa 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8 mg/mL dalam 5 mL. Dibuat menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

a. Konsentrasi 0,1 mg/mL

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \cdot 1 \text{ mg/mL} &= 5 \text{ mL} \cdot 0,1 \text{ mg/mL} \\ V_1 &= 0,5 \text{ mL larutan baku glukosa} + 4,5 \text{ mL } waterone \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 0,2 mg/mL

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \cdot 1 \text{ mg/mL} &= 5 \text{ mL} \cdot 0,2 \text{ mg/mL} \\ V_1 &= 1 \text{ mL larutan baku glukosa} + 4 \text{ mL } waterone \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 0,4 mg/mL

$$\begin{aligned} V_1 M_1 &= V_2 M_2 \\ V_1 \cdot 1 \text{ mg/mL} &= 5 \text{ mL} \cdot 0,4 \text{ mg/mL} \\ V_1 &= 2 \text{ mL larutan baku glukosa} + 3 \text{ mL } waterone \end{aligned}$$

d. Konsentrasi 0,6 mg/mL

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

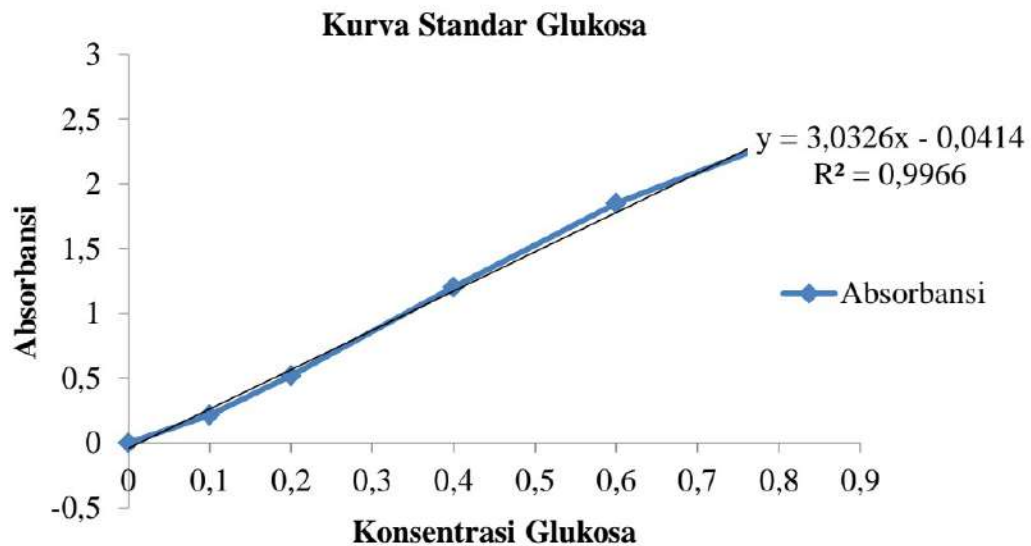
$$V_1 \cdot 1 \text{ mg/mL} = 5 \text{ mL} \cdot 0,6 \text{ mg/mL}$$

$$V_1 = 3 \text{ mL larutan baku glukosa} + 2 \text{ mL waterone}$$

3.2 Data kurva Kalibrasi Larutan Standar Glukosa $\lambda = 540 \text{ nm}$

No	Konsentrasi	Absorbansi
1	Blanko	0
2	0,1	0,215
3	0,2	0,520
4	0,4	1,202
5	0,6	1,851
6	0,8	2,332

3.3 Gravik Kurva Kalibrasi Larutan Standar Glukosa



LAMPIRAN 4. PENENTUAN KADAR GLUKOSA EKSTRAK KASAR ENZIM AMILASE PADA VARIASI SUHU

Data Absorbansi Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada Variasi Suhu

Suhu	Ulangan	Absorbansi
30 °C	1	0,557
	2	0,520
	3	0,384
40 °C	1	0,692
	2	0,699
	3	0,547
50 °C	1	0,596
	2	0,690
	3	0,690
60 °C	1	0,689
	2	0,725
	3	0,597
70 °C	1	0,908
	2	0,918
	3	0,918

Persamaan garis linear kurva standar glukosa

$$y = 3,032x - 0,041$$

$$x = \frac{y+0,041}{3,032}$$

Keterangan:

y = Absorbansi

x = Konsentrasi Glukosa (mg/mL)

1. Konsentrasi Glukosa pada suhu 30 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,557+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,598}{3,032} \\
 &= 0,197 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,520+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,561}{3,032} \\
 &= 0,185 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,384+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,425}{3,032} \\
 &= 0,140 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

2. Konsentrasi Glukosa pada Suhu 40 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,692+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,733}{3,032} \\
 &= 0,241 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,699+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,740}{3,032} \\
 &= 0,244 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,547+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,588}{3,032} \\
 &= 0,193 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

3. Konsentrasi Glukosa pada Suhu 50 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,596+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,637}{3,032} \\
 &= 0,210 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,690+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,731}{3,032} \\
 &= 0,241 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,690+0,041}{3,0326} \\
 &= \frac{0,731}{3,032} \\
 &= 0,241 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

4. Konsentrasi Glukosa pada Suhu 60 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,689+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,730}{3,032} \\
 &= 0,240 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,725+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,766}{3,032} \\
 &= 0,252 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,597+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,638}{3,032} \\
 &= 0,210 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

5. Konsentrasi Glukosa pada Suhu 70 °C

Simplo

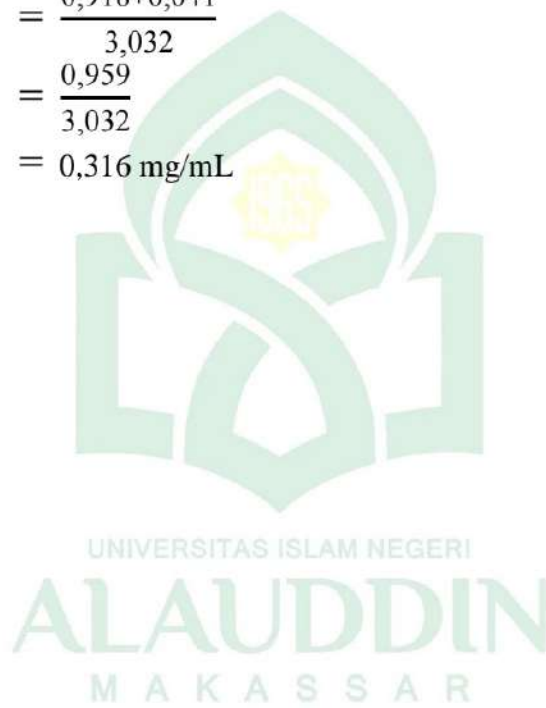
$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,908+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,949}{3,032} \\
 &= 0,312 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,918+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,959}{3,032} \\
 &= 0,316 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,918+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,959}{3,032} \\
 &= 0,316 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$



LAMPIRAN 5. PENENTUAN KADAR GLUKOSA EKSTRAK KASAR ENZIM AMILASE PADA VARIASI pH

Data Absorbansi Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada Variasi pH

pH	Ulangan	Absorbansi
4	1	0,367
	2	0,370
	3	0,374
5	1	0,349
	2	0,288
	3	0,369
6	1	0,331
	2	0,295
	3	0,332
7	1	0,298
	2	0,306
	3	0,305
8	1	0,231
	2	0,245
	3	0,229

1. Konsentrasi Glukosa pada pH 4

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,0414}{3,0326} \\
 &= \frac{0,367+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,408}{3,032} \\
 &= 0,134 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,0414}{3,0326} \\
 &= \frac{0,370+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,411}{3,032} \\
 &= 0,135 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,374+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,415}{3,032} \\
 &= 0,136 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

2. Konsentrasi Glukosa pada pH 5

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,288+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,329}{3,032} \\
 &= 0,108 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,349+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,390}{3,032} \\
 &= 0,128 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,369+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,410}{3,032} \\
 &= 0,135 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

3. Konsentrasi Glukosa pada pH 6

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,331+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,372}{3,032} \\
 &= 0,122 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,295+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,336}{3,032} \\
 &= 0,110 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,332+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,373}{3,032} \\
 &= 0,123 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

4. Konsentrasi Glukosa pada pH 7

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,298+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,339}{3,032} \\
 &= 0,111 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,306+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,347}{3,032} \\
 &= 0,114 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,305+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,346}{3,032} \\
 &= 0,114 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

5. Konsentrasi Glukosa pada pH 8

Simplo

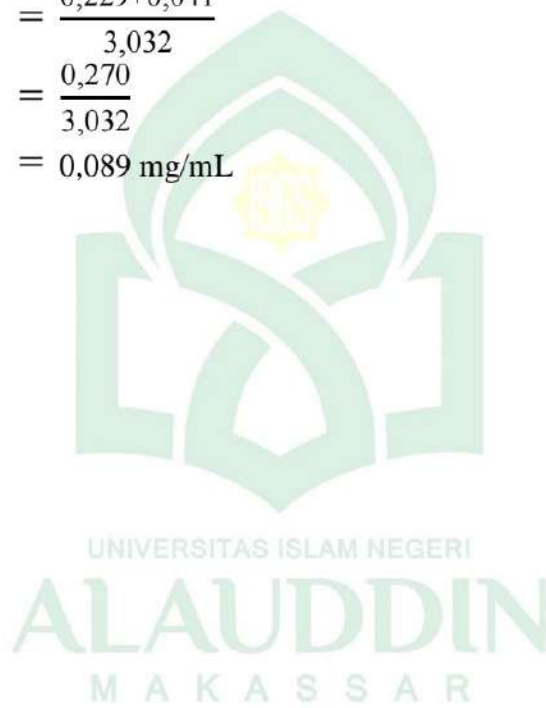
$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,231+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,272}{3,032} \\
 &= 0,089 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,035} \\
 &= \frac{0,245+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,286}{3,032} \\
 &= 0,094 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,035} \\
 &= \frac{0,229+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,270}{3,032} \\
 &= 0,089 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$



**LAMPIRAN 6. PENENTUAN KADAR GLUKOSA EKSTRAK KASAR
ENZIM AMILASE PADA VARIASI KONSENTRASI
SUBSTRAT**

Data Absorbansi Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada Variasi Konsentrasi Substrat

Konsentrasi Substrat	Ulangan	Absorbansi
1,0 %	1	0,159
	2	0,208
	3	0,354
1,25 %	1	0,309
	2	0,360
	3	0,315
1,50 %	1	0,360
	2	0,289
	3	0,286
1,75 %	1	0,326
	2	0,252
	3	0,256
2,0 %	1	0,238
	2	0,238
	3	0,325

1. Konsentrasi Glukosa pada konsentrasi substrat 1 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,159+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,200}{3,032} \\
 &= 0,065 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,0414}{3,032} \\
 &= \frac{0,208+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,249}{3,032} \\
 &= 0,082 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,354+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,395}{3,032} \\
 &= 0,130 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

2. Konsentrasi Glukosa pada konsentrasi substrat 1,25 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,309+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,350}{3,032} \\
 &= 0,115 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,360+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,401}{3,032} \\
 &= 0,132 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,315+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,356}{3,032} \\
 &= 0,117 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

3. Konsentrasi Glukosa pada konsentrasi substrat 1,5 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,360+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,401}{3,032} \\
 &= 0,132 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,289+0,041}{3,0326} \\
 &= \frac{0,330}{3,032} \\
 &= 0,108 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,286+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,327}{3,032} \\
 &= 0,107 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

4. Konsentrasi Glukosa pada konsentrasi substrat 1, 75 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,326+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,367}{3,032} \\
 &= 0,121 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,252+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,293}{3,032} \\
 &= 0,096 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,256+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,297}{3,032} \\
 &= 0,097 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

5. Konsentrasi Glukosa pada konsentrasi substrat 2 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,238+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,279}{3,032} \\
 &= 0,092 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,238+0,041}{3,0326} \\
 &= \frac{0,279}{3,032} \\
 &= 0,092 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,325+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,366}{3,032} \\
 &= 0,120 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 7. PENENTUAN KADAR GLUKOSA EKSTRAK KASAR ENZIM AMILASE PADA PATI KULIT SINGKONG

Data Absorbansi Ekstrak Kasar Enzim Amilase pada Pati Kulit Singkong

Substrat	Ulangan	Absorbansi
Pati Kulit	1	0,599
Singkong	2	0,597
	3	0,603

Simplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,599+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,640}{3,032} \\
 &= 0,211 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,597+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,638}{3,032} \\
 &= 0,210 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 [\text{Glukosa}] &= \frac{y+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,603+0,041}{3,032} \\
 &= \frac{0,644}{3,032} \\
 &= 0,212 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 8: PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol}$$

Keterangan:

[X] : Kadar glukosa (mg/mL)

F_p : Faktor Pengenceran

V_E : Volume enzim (mL)

V_S : Volume substrat (mL)

t : Waktu inkubasi (menit)

1. Data Aktivitas Enzim Amilase pada Variasi Suhu

Suhu	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim	Aktivitas Enzim (U/mL) ± SE
30 °C	1	0,557	0,197	0,072	0,063 ± 0,011
	2	0,520	0,185	0,068	
	3	0,384	0,140	0,051	
40 °C	1	0,692	0,241	0,089	0,083 ± 0,010
	2	0,699	0,244	0,090	
	3	0,547	0,193	0,071	
50 °C	1	0,596	0,210	0,077	0,085 ± 0,006
	2	0,690	0,241	0,089	
	3	0,690	0,241	0,089	
60 °C	1	0,689	0,240	0,088	0,086 ± 0,008
	2	0,725	0,252	0,093	
	3	0,597	0,210	0,077	
70 °C	1	0,908	0,312	0,115	0,116 ± 0,001
	2	0,918	0,316	0,117	
	3	0,918	0,316	0,117	

1. Aktivitas Enzim Amilase pada suhu 30 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,197}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{197 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,072 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,185}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{185 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,068 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,140}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{140 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,051 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

2. Aktivitas Enzim Amilase pada suhu 40 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,241}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{241 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,089 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,244}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{244 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,090 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,193}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{193 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,071 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

3. Aktivitas Enzim Amilase pada suhu 50 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,210}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{210 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,077 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,241}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{241 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,089 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,241}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{241 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,089 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

4. Aktivitas Enzim Amilase pada suhu 60 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,240}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{240 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,088 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,252}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{252 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,093 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,210}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{210 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,077 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

5. Aktivitas Enzim Amilase pada suhu 70 °C

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,312}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{312 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,115 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,316}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{316 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,117 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,316}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{316 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,117 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

2. Data Aktivitas Enzim Amilase pada Variasi pH

pH	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim	Aktivitas Enzim (U/mL) \pm SE
4	1	0,367	0,134	0,049	0,049 \pm 0,001
	2	0,370	0,135	0,050	
	3	0,374	0,136	0,050	
5	1	0,349	0,128	0,047	0,045 \pm 0,005
	2	0,288	0,108	0,040	
	3	0,369	0,135	0,050	
6	1	0,331	0,122	0,045	0,043 \pm 0,002
	2	0,295	0,110	0,040	
	3	0,332	0,123	0,045	
7	1	0,298	0,111	0,041	0,041 \pm 0,001
	2	0,306	0,114	0,042	
	3	0,305	0,114	0,042	
8	1	0,231	0,089	0,032	0,032 \pm 0,001
	2	0,245	0,094	0,034	
	3	0,229	0,089	0,032	

1. Aktivitas Enzim Amilase pada pH 4

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,134}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{134 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,049 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,135}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{315 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,050 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,136}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{136 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,050 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

2. Aktivitas Enzim Amilase pada pH 5

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,128}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{128 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,047 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,108}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{108 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,040 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,135}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{135 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,050 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

3. Aktivitas Enzim Amilase pada pH 6

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,122}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{122 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,045 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,110}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{110 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,040 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,123}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{123 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,045 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

4. Aktivitas Enzim Amilase pada pH 7

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,110}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{111 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,041 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,114}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{114 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,042 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,114}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{114 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,042 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

5. Aktivitas Enzim Amilase pada pH 8

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,089}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{89 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,032 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,094}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{94 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,034 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,089}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{89 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,032 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

3. Data Aktivitas Enzim Amilase pada Variasi Konsentrasi Substrat

Konsentrasi Substrat	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim	Aktivitas Enzim (U/mL) \pm SE
1,0 %	1	0,159	0,065	0,024	0,034 \pm 0,012
	2	0,208	0,082	0,030	
	3	0,354	0,130	0,048	
1,25 %	1	0,309	0,115	0,042	0,044 \pm 0,003
	2	0,360	0,132	0,048	
	3	0,315	0,117	0,043	
1,50 %	1	0,360	0,132	0,048	0,042 \pm 0,004
	2	0,289	0,108	0,040	
	3	0,286	0,107	0,039	
1,75 %	1	0,326	0,121	0,044	0,038 \pm 0,005
	2	0,252	0,096	0,035	
	3	0,256	0,097	0,035	
2,0 %	1	0,238	0,092	0,034	0,037 \pm 0,005
	2	0,238	0,092	0,034	
	3	0,325	0,120	0,044	

1. Aktivitas Enzim Amilase pada Konsentrasi Substrat 1 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,065}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{65 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,024 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,082}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{82 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,030 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,130}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{130 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,048 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

2. Aktivitas Enzim Amilase pada Konsentrasi Substrat 1, 25 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,115}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{115 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,042 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,132}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{132 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,048 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,117}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{117 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,043 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

3. Aktivitas Enzim Amilase pada Konsentrasi Substrat 1, 50 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,132}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{132 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,048 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,108}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{108 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,040 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,107}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{107 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,039 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

4. Aktivitas Enzim Amilase pada Konsentrasi Substrat 1,75 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,121}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{121 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,044 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,096}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{96 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,035 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,097}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{97 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,035 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

5. Aktivitas Enzim Amilase pada Konsentrasi Substrat 2 %

Simplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,092}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{92 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,034 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,092}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{92 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,034 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,120}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{120 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,044 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

4. Data Aktivitas Enzim Amilase pada Substrat Alami Kulit Singkong

Substrat	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL) \pm SE
Pati Kulit	1	0,599	0,211	0,078	
Singkong	2	0,597	0,210	0,077	0,077 \pm 0,001
	3	0,603	0,212	0,078	

Simplo

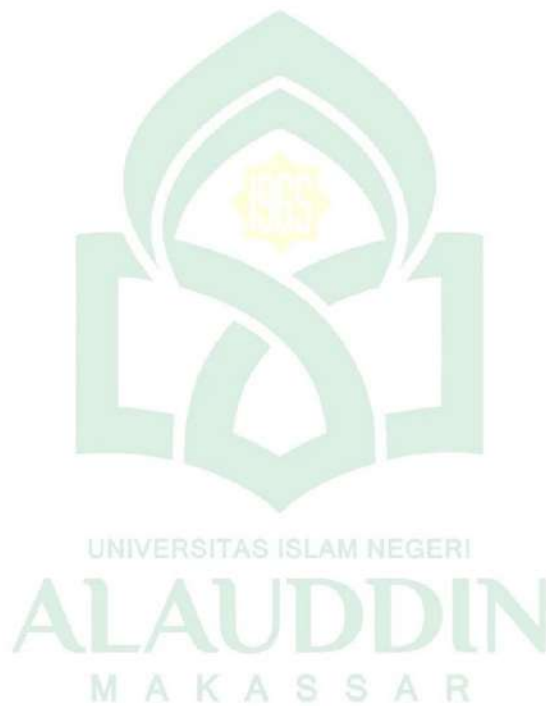
$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,211}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{211 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,078 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Duplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \text{ } \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,210}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{210 \text{ } \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,077 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Triplo

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{[X]}{\text{Mr Glukosa}} \times \frac{F_p}{V_E} \times \frac{V_s}{t} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{0,212}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{2 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mL}}{15 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\
 &= \frac{212 \mu\text{mol/mL}}{2700 \text{ menit}} \\
 &= 0,078 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$



LAMPIRAN 9: STANDAR DEVISIASI AKTIVITAS ENZIM AMILASE

1. STANDAR DEVIASI SAMPEL PADA VARIASI SUHU

$$\text{Suhu } 30^{\circ}\text{C} \quad \bar{x} = \frac{0,072+0,068+0,051}{3} = 0,063$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,072-0,063)^2 + (0,068-0,063)^2 + (0,051-0,063)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000081 + 0,000025 + 0,000144}{2}} \\ &= \sqrt{0,000125} = 0,011 \end{aligned}$$

$$\text{Suhu } 40^{\circ}\text{C} \quad \bar{x} = \frac{0,089+0,090+0,071}{3} = 0,083$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,089-0,083)^2 + (0,090-0,083)^2 + (0,071-0,083)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000036 + 0,000049 + 0,000144}{2}} \\ &= \sqrt{0,0001145} = 0,010 \end{aligned}$$

$$\text{Suhu } 50^{\circ}\text{C} \quad \bar{x} = \frac{0,077+0,089+0,089}{3} = 0,085$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,077-0,085)^2 + (0,089-0,085)^2 + (0,089-0,085)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000064 + 0,000016 + 0,000016}{2}} \\ &= \sqrt{0,000048} = 0,006 \end{aligned}$$

$$\text{Suhu } 60^{\circ}\text{C} \quad \bar{x} = \frac{0,088+0,093+0,077}{3} = 0,086$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,088-0,086)^2 + (0,093-0,086)^2 + (0,077-0,086)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000004 + 0,000049 + 0,000081}{2}} \\ &= \sqrt{0,000067} = 0,008 \end{aligned}$$

$$\text{Suhu } 70^{\circ}\text{C} \quad \bar{x} = \frac{0,115+0,117+0,117}{3} = 0,116$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,115-0,116)^2 + (0,117-0,116)^2 + (0,117-0,116)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000001 + 0,000001 + 0,000001}{2}} \\ &= \sqrt{0,0000015} = 0,001 \end{aligned}$$

2. STANDAR DEVIASI SAMPEL PADA VARIASI pH

$$\text{pH 4} \quad \bar{x} = \frac{0,049+0,050+0,050}{3} = 0,049$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,049-0,049)^2 + (0,050-0,049)^2 + (0,050-0,049)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0+0,000001+0,000001}{2}} \\ &= \sqrt{0,000001} = 0,001 \end{aligned}$$

$$\text{pH 5 } \bar{x} = \frac{0,047+0,040+0,050}{3} = 0,045$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,047-0,045)^2 + (0,040-0,045)^2 + (0,050-0,045)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000004 + 0,000025 + 0,000025}{2}} \\ &= \sqrt{0,000027} = 0,005 \end{aligned}$$

$$\text{pH 6 } \bar{x} = \frac{0,045+0,040+0,045}{3} = 0,043$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,045-0,043)^2 + (0,040-0,043)^2 + (0,045-0,043)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000004 + 0,000009 + 0,000004}{2}} \\ &= \sqrt{0,000085} = 0,002 \end{aligned}$$

$$\text{pH 7 } \bar{x} = \frac{0,041+0,042+0,042}{3} = 0,041$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,041-0,041)^2 + (0,042-0,041)^2 + (0,042-0,041)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0+0,000001+0,000001}{2}} \\ &= \sqrt{0,000001} = 0,001 \end{aligned}$$

$$\text{pH 8 } \bar{x} = \frac{0,032+0,034+0,032}{3} = 0,032$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,032-0,032)^2 + (0,034-0,032)^2 + (0,032-0,032)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0+0,000004+0}{2}} \\ &= \sqrt{0,000002} = 0,001 \end{aligned}$$

3. STANDAR DEVIASI SAMPEL PADA VARIASI KONSENTRASI SUBSTRAT

Konsentrasi 1 %

$$\bar{x} = \frac{0,024+0,030+0,048}{3} = 0,034$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,024-0,034)^2 + (0,030-0,034)^2 + (0,048-0,034)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,0001+0,000016+0,000196}{2}} \\ &= \sqrt{0,000156} = 0,012 \end{aligned}$$

Konsentrasi 1,25 %

$$\bar{x} = \frac{0,042+0,048+0,043}{3} = 0,044$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,042-0,044)^2 + (0,048-0,044)^2 + (0,043-0,044)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000004+0,000016+0,000001}{2}} \\ &= \sqrt{0,0000105} = 0,003 \end{aligned}$$

Konsentrasi 1,5 %

$$\bar{x} = \frac{0,048+0,040+0,039}{3} = 0,042$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,048-0,042)^2 + (0,040-0,042)^2 + (0,039-0,042)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000036+0,000004+0,000009}{2}} \\ &= \sqrt{0,0000245} = 0,004 \end{aligned}$$

Konsentrasi 1,75 %

$$\bar{x} = \frac{0,044+0,035+0,035}{3} = 0,038$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,044-0,038)^2 + (0,035-0,038)^2 + (0,035-0,038)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000036+0,000009+0,000009}{2}} \\ &= \sqrt{0,000027} = 0,005 \end{aligned}$$

Konsentrasi 2 %

$$\bar{x} = \frac{0,034+0,034+0,044}{3} = 0,037$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,034-0,037)^2 + (0,034-0,037)^2 + (0,044-0,037)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000009+0,000009+0,000049}{2}} \\ &= \sqrt{0,0000335} = 0,005 \end{aligned}$$

4. STANDAR DEVIASI SAMPEL PADA SUBSTRAT ALAMI

$$\bar{x} = \frac{0,078+0,077+0,078}{3} = 0,077$$

$$\begin{aligned} S &= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(0,078-0,077)^2 + (0,077-0,077)^2 + (0,078-0,077)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,000001+0+0,000001}{2}} \\ &= \sqrt{0,000001} = 0,001 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 10: DOKUMENTASI PENELITIAN

1. Ekstraksi Pati Kulit Singkong



Sampel ditimbang sebanyak 600 gram



Sampel dihaluskan menggunakan blender



Pengendapan dan penyaringan

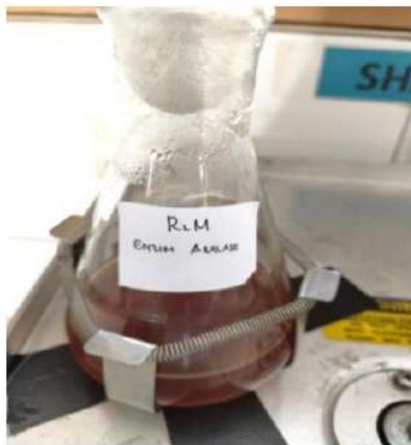


Pengeringan sampel



Pati kulit singkong

2. Produksi Enzim Amilase



Media inokulum



Media inokulum setelah dishaker
24 jam kecepatan 180 rpm



Media produksi



Media produksi setelah dishaker
Selama 48 jam



Dimasukkan ke sentrifuge dingin (4°C)



Ekstrak kasar enzim amilase

3. Pembuatan pereaksi DNS dan buffer pH 4, 5, 6, dan 7



Dibuat pereaksi DNS



Dibuat buffer pH 4



Dibuat buffer pH 5



Dibuat buffer pH 6



Dibuat buffer pH 7



Dibuat buffer pH 8

4. Pembuatan Standar Glukosa



Dibuat larutan standar glukosa



Sebelum pemanasan



Setelah pemanasan

5. Karakterisasi enzim amilase



Variasi pH sebelum pemanasan



Setelah pemanasan



Variasi konsentrasi substrat
Sebelum pemanasan



Setelah pemanasan



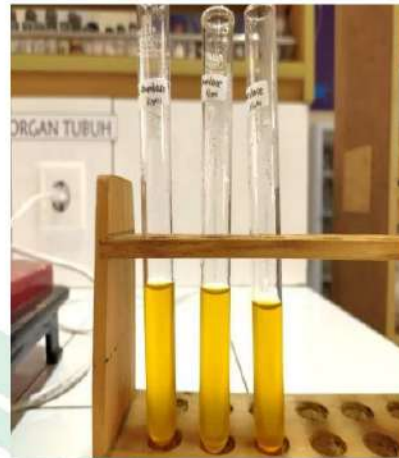
Variasi suhu sebelum pemanasan



Setelah pemanasan



Substrat alami
sebelum pemanasan



Setelah pemanasan



Diukur absorbansi dengan
Spektrometer *visible*
Pada $\lambda = 540 \text{ nm}$

RIWAYAT HIDUP



Nur Alfina lahir di Barru pada tanggal 6 November 1998. Penulis akrab disapa Pina. Penulis merupakan anak ketiga dari empat bersaudara dari pasangan Muhammad Sabir dan Hukmia. Pada Tahun 2005 penulis menempuh pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 2 Hamadi dan pada tahun 2011 melanjutkan pendidikannya SMP Negeri 9 Jayapura. Selanjutnya penulis menempuh pendidikan di SMA Negeri 4 Jayapura dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan kejenjang S1 di perguruan tinggi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dengan mengambil jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.